VOLUMEN 9 DICIEMBRE, 1961 FASCICULO 2

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

REVISTA DE BIOLOGIA TROPICAL

EDITORIAL UNIVERSITARIA

SAN JOSE COSTA RICA

CONSEJO HONORARIO

CARLOS MONGE
Rector de la Universidad de Costa Rica

LUIS A. SALAS
Decano de la Facultad de Agronomía

GONZALO MORALES
Decano de la Facultad de Microbiología

OSCAR RAMIREZ
Decano de la Facultad de Farmacia

EDWIN FISCHEL
Decano de la Facultad de Odontología

MARIO MIRANDA
Decano de la Facultad de Medicina

RAFAEL L. RODRIGUEZ
Director

JOHN DE ABATE
RODRIGO ZELEDON
Directores Asociados

COMITE DE REDACCION

ROGER BOLAÑOS
RODRIGO R. BRENES
EDDIE ECHANDI
BERNAL FERNANDEZ
OTTO JIMENEZ
PEDRO MORERA
ARMANDO RUIZ
ALFONSO TREJOS
ALVARO WILLE

Los artículos que se deseen someter para su publicación deberán ser enviados a: Dirección de "REVISTA DE BIOLOGIA TROPICAL", Universidad de Costa Rica, Ciudad Universitaria, Costa Rica, A. C. La correspondencia relativa a canje y suscriciones deberá dirigirse a: Biblioteca de la Universidad de Costa Rica, Ciudad Universitaria, Costa Rica, A. C.

REVISTA

DE

BIOLOGIA TROPICAL

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

VOLUMEN 9 DICIEMBRE, 1961 FASCICULO 2

SUMARIO

Editorial.—Fabio Baudrit Moreno

VARGAS, M.—Algunas observaciones sobre los hábitos de *Anopheles (N.) albimanus* y *Anopheles (A.) punctimacula* adultos, en la localidad de Matapalo (Puntarenas) Costa Rica 153

SÁENZ, C., & CECILIA LIZANO.—A contribution to the study of hookworm disease in infants 171

FLORES-BARROETA, L., ESPERANZA HIDALGO & F. MONTERO-GEI.—Céstodos de vertebrados. VIII 187

RUIZ, A.—Ciliados de vida libre de la Ciudad Universitaria, Costa Rica 209

RUIZ, A., & F. ORTIZ.—Eimerias de los bovinos de Costa Rica. II Incidencia en terneros 215

TAMSITT, J. R., & D. VALDIVIESO.—Notas sobre actividades nocturnas y estados de reproducción de algunos Quirópteros de Costa Rica..... 219

RUIZ, A.—Contribución al estudio del género *Phytomonas* Donovan en Costa Rica. III. *Phytomonas davidi* (Lafont, 1909) Donovan, 1909 227

SÁEZ, J. A., & MARYSSIA NASSAR.—Glicósidos de *Thevetia plumeriaefolia* Benth. I 233

PÉREZ-REYES, R.—Estudios sobre hematozoarios. XI. Infecciones experimentales con *Plasmodium vivax* 241

FABIO BAUDRIT MORENO

1910 - 1961

El 23 de noviembre de 1961 falleció el Ingeniero Agrónomo don Fabio Baudrit Moreno, quinto Rector de la Universidad de Costa Rica. Fue don Fabio Baudrit uno de los primeros Ingenieros Agrónomos formados en la antigua Escuela de Agricultura cuando ésta dependía de la Secretaría de Fomento. La tradición cultural de su hogar le dio horizontes que en mucho sobrepasaban los de la profesión; y sus amigos lo conocieron durante toda su vida como un hombre jovial, de gentileza y bondad ejemplares, y tesonero en el trabajo.

Se incorporó al personal docente de la Escuela de Agricultura en 1939 y, cuando vino ésta a ser la Facultad de Agronomía de la Universidad de Costa Rica, fue don Fabio su primer Decano, puesto que ocupó hasta 1960 cuando fue elegido Rector de la Universidad. Aportó al decanato su propia preparación profesional; una gran comprensión de las necesidades del país en materia agrícola; una comprensión igualmente clara de la tarea por realizar en la Universidad; y un sentido muy profundo de lo humano en sus relaciones con colegas y estudiantes.

Se consagró con entusiasmo irrefrenable al desarrollo de su Facultad moral, profesional y físicamente—esto último, por ejemplo, en la construcción del edificio de Agronomía en la Ciudad Universitaria, empezado en 1947 y terminado en 1950. No era raro verlo, en esos años, salir de su oficina y llevarse un camión para recoger materiales de construcción que hubiera conseguido a precio reducido o bien gratuitamente con alguno de sus conocidos. A partir de 1956, dedicó esfuerzos igualmente entusiastas al desarrollo de la Granja Experimental de San Fernando, de la Universidad. Desde el decanato de Agronomía apoyó sin reservas la reforma universitaria, y fue en todo momento un alentador de cuanto esfuerzo se hiciera para desarrollar las actividades científicas de la Universidad y el sistema de profesorados de tiempo completo.

Los miembros de la Dirección y del Comité de Redacción de la REVISTA DE BIOLOGIA TROPICAL *nos unimos al luto que su desaparición ha traído a sus familias y a la Universidad de Costa Rica, y lloramos no sólo al Rector y al prudente consejero, sino a uno de los impulsores de la Revista desde su fundación y a un amigo muy querido.*

LA DIRECCION

Ing. Agr. Fabio Baudrit M.

Rev. Biol. Trop., 9(2): 153-170, 1961.

Algunas observaciones sobre los hábitos de Anopheles (N.) albimanus y Anopheles (A.) punctimacula adultos, en la localidad de Matapalo (Puntarenas) Costa Rica. (*)

por

Mario Vargas V.

(Recibido para su publicación el 15 de junio de 1961)

Uno de los aspectos que cada día adquiere mayor importancia en los programas de erradicación de la malaria es, el estudio de los hábitos de los anofelinos vectores activos y potenciales, sobre todo en áreas en donde se observe la persistencia en la transmisión palúdica. La localidad de Matapalo, Puntarenas, ha sido catalogada por el SNEM de Costa Rica, como una área con tal característica (1) por lo que se han realizado allí diversos estudios entomológicos con el fin de encontrar las causas de la misma. Nos proponemos analizar brevemente algunos de tales estudios. Las observaciones realizadas durante los períodos diciembre 1958-enero-febrero 1959, mayo-junio 1959 y parte de 1960, determinaron la presencia en la localidad de Matapalo de las siguientes especies anofelinas: *A. (N.) albimanus, A. (A.) punctimacula, A. (A.) pseudopunctipennis* y *A. (A.) apicimacula.* Tales especies se encontraron mediante la identificación de material larval y captura de adultos de las diversas fuentes tales como cebo animal, cebo humano, paredes internas y externas de casas y vegetación peridomiciliar.

Dadas las facilidades para obtener una adecuada densidad de adultos de *A. (N.) albimanus* y *A. (A.) punctimacula,* se hicieron una serie de observaciones de tipo cualitativo comprendidas entre el período del 17 de mayo al 1º de julio de 1959 y cuyos resultados básicos enumeramos a continuación: a.—No se notó actividad diurna de los citados anofelinos (7 am a 5 pm). b.—Se notó una aparente diferencia entre el período nocturno de actividad de *A. (N.) albi-*

---

* Departamento Lucha Contra Insectos, Ministerio Salubridad Pública, Costa Rica.

manus y *A. (A.) punctimacula*, pues pareció ser que el primero desplegó mayor actividad en las tempranas horas de la noche y el segundo prolongó tal actividad, hasta horas de la madrugada. Ambas especies llegaron a las casas en "ondas" más o menos marcadas. c.—Ambas especies aparecieron generalmente en mayor número después de una lluvia intensa o liviana. d.—Ambas especies picaron al hombre o a los animales indistintamente, no dando muestras especiales de una preferencia por determinado huésped. Generalmente no se alimentaron de una sola vez, sino que picaron varias veces. e.—*A. (N.) albimanus* fue siempre más inquieto que *A. (A.) punctimacula*. f.—Se observó que ambas especies pican indistintamente fuera o dentro de las casas, dependiendo tal situación de la mayor o menor facilidad de acceso a la víctima. g.—Ambas especies fueron atraídas por la luz. h.—Los sitios escogidos para posar por ambas especies fueron, fundamentalmente, las superficies internas y externas de las paredes de las casas en número reducido y la vegetación adyacente a las casas en número realmente elevado; en tal vegetación se pudo observar ejemplares a alturas tan bajas como los 20 cm y en raras ocasiones se les encontró posando a más de 2 m de altura. Los ejemplares escogieron la cara ventral de las hojas, disponiéndose en hileras. i.—Dependiendo del tiempo empleado para las capturas fue posible observar o bien gran cantidad de ejemplares ayunos o ingurgitados. Cuando el número de ejemplares llenos era bastante elevado para un determinado período, después de un lapso de alrededor de una hora, se observó el aumento escalonado de los ejemplares ayunos. j.—Los ejemplares ingurgitados fueron capturados de la vegetación, más fácilmente que los ayunos, los que se molestaban cuando el individuo que efectuó la captura hacía algún movimiento o los iluminaba directamente. k.—La alimentación de ambas especies aparentemente se sucedió en la siguiente forma: atacaron al ganado vacuno si tal estaba presente en los alrededores de las casas. Si la densidad anofelina era muy alta, se dirigían a las casas para picar indistintamente, al hombre o al animal, intra o extradomiciliarmente dependiendo de las condiciones más favorables. l.—Se notó que muy pocos ejemplares ingurgitados reposaron en las paredes internas de las casas en relación al número total de ejemplares que picaban contra cebos humanos o animales. n.—El reposo de ambas especies en las superficies internas de las casas protegidas bajo la acción del DDT, usado con fines antimaláricos fue, en la mayoría de los casos, por breves minutos.

Las observaciones anteriormente expuestas, de tipo cualitativo, tenían necesariamente que ser comprobadas o analizadas en forma cuantitativa, para determinar su importancia en la transmisión de malaria en la localidad; con tal fin, RACHOU y MOURA LIMA (2) consultores de la OMS, para tener una idea sobre las especies anofelinas presentes en superficies internas de casas y contra cebo humano, realizaron capturas directas con tubos aspiradores, conjuntamente con el personal de entomología del SNEM, en un grupo de casas y por un período comprendido entre el 16 y el 22 de junio de 1960, obteniéndose de tales un total de 152 ejemplares adultos. Las capturas hechas en las superficies internas de las casas arrojaron un total de 89 ejemplares (59%) de *A. (A.) punctimacula*, 61 ejemplares (40%) de *A. (N.) albimanus* y 1 (1%) de *A. (A.) apicimacula* y *A. (A.) pseudopunctipennis* respectivamente.

Las capturas hechas contra cebo humano y en un período comprendido del 13 al 22 de junio arrojaron un total de 649 ejemplares de los cuales 513 (79%) fueron de *A. (N.) albimanus,* 119 (18%) de *A. (A.) punctimacula,* 10 (2%) de *A. (A.) pseudopunctipennis* y 7 (1%) de *A. (A.) apicimacula.*

El día 8 de junio se obtuvo un total de 48 ejemplares contra cebo humano extradomiciliar de los cuales 20 (42%) correspondieron al *A. (N.) albimanus,* 25 (52%) al *A. (A.) punctimacula,* 2 (4%) al *A. (A.) apicimacula* y 1 (2%) al *A. (A.) pseudopunctipennis.*

El 19 de junio se colectó un total de 228 ejemplares en un albergue animal (gallinero) de los cuales 191 (84%) fueron *A. (A.) punctimacula,* 33 (14%) de *A. (N.) albimanus,* 2 (1%) de *A. (A.) pseudopunctipennis* y 2 (1%) de *A. (A.) apicimacula.* En otro albergue animal, para cerdos, se colectaron 112 ejemplares siendo 101 (90%) de *A. (A.) punctimacula,* 5 (4%) de *A. (N.) albimanus,* 4 (4%) de *A. (A.) apicimacula* y 2 (2%) de *A. (A.) pseudopunctipennis.*

Sin entrar a analizar una serie de factores que quizás hubieran hecho variar los resultados obtenidos, tales como el tiempo diferente empleado en los distintos días, para las capturas, parece interesante destacar los siguientes hechos: Sobre las superficies internas de las casas en estudio, el total de *A. (A.) punctimacula* fue superior al total de *A. (N.) albimanus.* El total de ejemplares intradomiciliares, contra cebo humano, fue cerca de cinco veces superior el *A. (N.) albimanus* en relación al *A. (A.) punctimacula.* Las capturas extradomiciliares contra cebo humano revelaron una casi igualdad entre *A. (N.) albimanus* y *A. (A.) punctimacula.* Las capturas extradomiciliares en albergues animales indicaron una manifiesta superioridad de *A. (A.) punctimacula* sobre *A. (N.) albimanus.* Mientras intradomiciliarmente existió en captura contra cebo humano, una afluencia marcadamente mayor de *A. (N.) albimanus,* peridomiciliarmente y también contra cebo humano, el predominio fue de *A. (A.) punctimacula.*

Teniendo nosotros, después de algunas observaciones de campo y de los resultados antes mencionados, la idea de que las varias especies anofelinas sufren enormes variaciones en sus densidades relativas en una época determinada, no solamente en una área o localidad, sino que en una misma casa, lo que puede dar lugar a conclusiones erróneas si el número de observaciones es mínimo, decidimos ahondar un poco más en dichas consideraciones, para demostrar que existe un "medio ambiente anofelínico" en cada casa, el cual depende de factores ambientales tales como la localización y extensión de los criaderos, vientos, lluvias etc.

METODOS

Se trazó un plan de captura de anofelinos adultos para un período comprendido entre el 14 de julio al 3 de agosto de 1960. Con el fin de eliminar algunos posibles factores interferentes en la obtención de una muestra representativa, se estableció un período de captura arbitrario, comprendido entre las 6:30 pm a las 9:30 pm.

El mecanismo consistió en la captura intradomiciliar de mosquitos sobre superficies rociadas con insecticida y contra cebo humano, colectando luego en paredes externas y por último, en vegetación peridomiciliar. Tal orden de colecta se repitió una y otra vez, hasta dar término al período de 3 horas. Se escogieron 8 casas de fácil observación y se efectuaron colectas por varias noches consecutivas en cada casa, con el fin de observar las variaciones sobre los totales de las diversas especies colectadas por noche.

Pero no solamente nos interesó conocer algunas de las manifestaciones de comportamiento de las especies citadas durante las primeras horas de la noche, por lo que nos propusimos realizar un plan de capturas durante un lapso de 12 horas a partir de las 6 pm y que abarcaron un período del 16 de julio al 7 de setiembre de 1960, como sigue: Cuatro colectores, turnándose por períodos de 3 horas cada uno, se encargaron de capturar y separar hora a hora el material anofelino. Se escogieron para tal objeto dos sitios: la casa destinada como alojamiento y local de experimentación del personal de entomología, con características de construcción que ofrecían dificultades de penetración para los mosquitos. En tal casa se siguió un sistema ordenado de colecta de ejemplares, de paredes internas, paredes externas, vegetación peridomiciliar y cebo humano intra y extradomiciliar, hasta consumir las 12 horas propuestas. El otro sitio escogido como lugar de captura lo fue el salón de baile de la localidad el que, en varias oportunidades sirve como "dormitorio" a pernoctantes ocasionales y otros, durante altas horas de la noche, así como sitio regular de reunión durante el período de 6 a 10 pm. Ofrece este salón la particularidad de tener una escasísima superficie rociable, no ofreciendo ningún obstáculo para que los anofelinos puedan penetrar y retirarse si fuera del caso una vez que encontraran su fuente de alimentación, o bien para constituirse en simple albergue o sitio de reposo a mosquitos previamente alimentados en otro lugar. En resumen, tal situación podríamos considerarla como óptima para una transmisión de tipo intradomiciliar libre. Las capturas realizadas en este salón fueron únicamente de las superficies internas de las escasas paredes. Destacamos el hecho de que se encuentra a sólo unos 100 metros de la casa de alojamiento del personal de entomología, ya citada.

RESULTADOS

En los cuadros 1 al 8 se encuentran los resultados obtenidos en cada una de las casas en estudio.

Los 5 gráficos permiten comparar las curvas de densidad entre las dos especies en estudio, durante las 12 horas de colecta.

CUADRO 1

CASA Nº 29.—

Totales y porcentajes relativos/especie/día:

Especie:	*Captura:*						
	1a	2a	3a	4a	5a	6a	Tot/porcent.
A. (N.) albimanus	39(89)	10(40)	20(35)	18(31)	19(17)	43(44)	149(38)
A. (A.) punctimacula	5(11)	15(60)	37(65)	36(63)	90(82)	54(56)	237(61)
A. (A.) pseudopunctipennis	0(0)	0(0)	0(0)	2(4)	1(1)	0(0)	3(0.7)
A. (A.) apicimacula	0(0)	0(0)	0(0)	1(2)	0(0)	0(0)	1(0.3)
Tot/capt.	44	25	57	57	110	97	390

Totales y porcentajes de distribución intra y extradomiciliar de los ejemplares colectados:

Paredes internas	84(21)
Paredes externas	23(6)
Vegetación	143(37)
Cebo humano	140(36)

CUADRO 2

CASA Nº 31.—

Totales y porcentajes relativos/especie/día:

Especie:	*Captura:* 1a	2a	3a	4a	Tot/porcent.
A. (N.) albimanus	16(84)	5(83)	6(100)	3(33)	30(75)
A. (A.) punctimacula	3(16)	1(17)	0(0)	6(67)	10(25)
A. (A.) pseudopunctipennis	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
A. (A.) apicimacula	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Tot/capt.	19	6	6	9	40

Totales y porcentajes de distribución intra y extradomiciliar de los ejemplares colectados:

Paredes internas	28(70)
Paredes externas	12(30)
Vegetación	0(0)
Cebo humano	0(0)

CUADRO 3

CASA Nº 36.—

Totales y porcentajes relativos/especie/día:

Especie:	*Captura:*										
	1a	2a	3a	4a	5a	6a	7a	8a	9a	10a	Tot/porcent.
A. (N.) albimanus	14(61)	18(67)	56(98)	39(97)	36(82)	16(100)	19(86)	10(100)	11(48)	6(43)	225(81.5)
A. (A.) punctimacula	9(39)	7(26)	1(2)	1(3)	7(16)	0(0)	3(14)	0(0)	12(52)	8(57)	48(17.1)
A. (A.) pseudopunctipennis	0(0)	1(0.4)	(0)0	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.4)
A. (A.) apicimacula	0(0)	1(0.4)	0(0)	0(0)	1(0.02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0.7)
Tot/capt.	23	27	57	40	44	16	22	10	23	14	276

Totales y porcentajes de distribución intra y extradomiciliar de los ejemplares colectados:

Paredes internas	7(2)
Peredes externas	0(0)
Vegetación	49(18)
Cebo humano	220(80)

CUADRO 4

CASA N° 42. -

Totales y porcentajes relativos/especie/día:

Especie:	*Capturas:*					
	1a	2a	3a	4a	5a	Tot/porcent.
A. (N.) albimanus	0(0)	8(42.1)	16(55.2)	18(46.2)	9(50)	51(39)
A. (A.) punctimacula	27(100)	11(57.9)	12(41.4)	21(53.8)	9(50)	80(60)
A. (A.) pseudopunctipennis	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
A. (A.) apicimacula	0(0)	0(0)	1(3.4)	0(0)	0(0)	1(1)
Tot/capt.	27	19	29	39	18	132

Totales y porcentajes de distribución intra y extradomiciliar de los ejemplares colectados:

Paredes internas	21(15.9)
Paredes externas	43(32.6)
Vegetación	50(37.9)
Cebo humano	18(13.6)

CUADRO 5

CASA N° 43. –

Totales y porcentajes relativos/especie/día:

Especie:	*Captura:*						
	1a	2a	3a	4a	5a	6a	Tot/porcent.
A. (N.) albimanus	42(100)	4(100)	24(80)	14(29.2)	3(37.5)	4(19)	91(59.5)
A. (A.) punctimacula	0(0)	0(0)	6(20)	33(68.7)	5(62.5)	17(81)	61(40)
A. (A.) pseudopunctipennis	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
A. (A.) apicimacula	0(0)	0(0)	0(0)	1(2.1)	0(0)	0(0)	1(0.5)
Tot/capt.	42	4	30	48	8	21	153

Totales y porcentajes de distribución intra y extradomiciliar de los ejemplares colectados:

Paredes internas	4(2.6)
Paredes externas	30(19.6)
Vegetación	69(45.1)
Cebo humano	50(32.7)

CUADRO 6

CASA N° 47.—

Totales y porcentajes relativos/especie/día:

Especie:	*Captura:*					
	1a	2a	3a	4a	5a	Tot/porcent.
A. (N.) albimanus	27(24)	16(55)	14(37)	32(51)	20(74)	109(41)
A. (A.) punctimacula	85(76)	13(45)	24(63)	28(44)	7(26)	157(58)
A. (A.) pseudopunctipennis	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
A. (A.) apicimacula	0(0)	0(0)	0(0)	3(5)	0(0)	3(1)
Tot/capt.	112	29	38	63	27	269

Totales y porcentajes de distribución intra y extradomiciliar de los ejemplares colectados:

Paredes internas	42(16)
Paredes externas	28(10)
Vegetación	115(43)
Cebo humano	84(31)

CUADRO 7

CASA Nº 48.---

Totales y porcentajes relativos/especie/día:

Especie:	*Captura:*					
	1a	2a	3a	4a	5a	Tot/porcent.
A. (N.) albimanus	4(80)	3(38)	21(84)	50(91)	38(73)	116(80)
A. (A.) punctimacula	1(20)	5(62)	4(16)	5(9)	14(27)	29(20)
A. (A.) pseudopunctipennis	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
A. (A.) apicimacula	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Tot/capt.	5	8	25	55	52	145

Totales y porcentajes de distribución intra y extradomiciliar de los ejemplares colectados:

Paredes internas	3(2)
Paredes externas	0(0)
Vegetación	3(2)
Cebo humano	139(96)

CUADRO 4

CASA Nº 42. -

Totales y porcentajes relativos/especie/día:

Especie:	*Captura:*					
	1a	2a	3a	4a	5a	Tot/porcent.
A. (N.) albimanus	0(0)	8(42.1)	16(55.2)	18(46.2)	9(50)	51(39)
A. (A.) punctimacula	27(100)	11(57.9)	12(41.4)	21(53.8)	9(50)	80(60)
A. (A.) pseudopunctipennis	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
A. (A.) apicimacula	0(0)	0(0)	1(3.4)	0(0)	0(0)	1(1)
Tot/capt.	27	19	29	39	18	132

Totales y porcentajes de distribución intra y extradomiciliar de los ejemplares colectados:

Paredes internas	21(15.9)
Paredes externas	43(32.6)
Vegetación	50(37.9)
Cebo humano	18(13.6)

CUADRO 5

CASA N° 43. –

Totales y porcentajes relativos/especie/día:

Especie:	*Captura:*						
	1a	2a	3a	4a	5a	6a	Tot/porcent.
A. (N.) albimanus	42(100)	4(100)	24(80)	14(29.2)	3(37.5)	4(19)	91(59.5)
A. (A.) punctimacula	0(0)	0(0)	6(20)	33(68.7)	5(62.5)	17(81)	61(40)
A. (A.) pseudopunctipennis	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
A. (A.) apicimacula	0(0)	0(0)	0(0)	1(2.1)	0(0)	0(0)	1(0.5)
Tot/capt.	42	4	30	48	8	21	153

Totales y porcentajes de distribución intra y extradomiciliar de los ejemplares colectados:

Paredes internas	4(2.6)
Paredes externas	30(19.6)
Vegetación	69(45.1)
Cebo humano	50(32.7)

CUADRO 6

CASA N° 47.—

Totales y porcentajes relativos/especie/día:

Especie:	*Captura:*					
	1a	2a	3a	4a	5a	Tot/porcent.
A. (N.) albimanus	27(24)	16(55)	14(37)	32(51)	20(74)	109(41)
A. (A.) punctimacula	85(76)	13(45)	24(63)	28(44)	7(26)	157(58)
A. (A.) pseudopunctipennis	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
A. (A.) apicimacula	0(0)	0(0)	0(0)	3(5)	0(0)	3(1)
Tot/capt.	112	29	38	63	27	269

Totales y porcentajes de distribución intra y extradomiciliar de los ejemplares colectados:

Paredes internas	42(16)
Paredes externas	28(10)
Vegetación	115(43)
Cebo humano	84(31)

CUADRO 7

CASA Nº 48.—

Totales y porcentajes relativos/especie/día:

Especie:	*Captura:*					
	1a	2a	3a	4a	5a	Tot/porcent.
A. (N.) albimanus	4(80)	3(38)	21(84)	50(91)	38(73)	116(80)
A. (A.) punctimacula	1(20)	5(62)	4(16)	5(9)	14(27)	29(20)
A. (A.) pseudopunctipennis	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
A. (A.) apicimacula	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Tot/capt.	5	8	25	55	52	145

Totales y porcentajes de distribución intra y extradomiciliar de los ejemplares colectados:

Paredes internas	3(2)
Paredes externas	0(0)
Vegetación	3(2)
Cebo humano	139(96)

CUADRO 8

CASA Nº 50.—

Totales y porcentajes relativos/especie/día:

Especie:	*Captura:*					
	1a	2a	3a	4a	5a	Tot/porcent.
A. (N.) albimanus	50(63)	67(97)	38(81)	19(31)	35(67)	209(67.5)
A. (A.) punctimacula	28(35)	1(2)	9(19)	35(56)	17(33)	90(29)
A. (A.) pseudopunctipennis	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.3)
A. (A.) apicimacula	1(1)	1(1)	0(0)	8(13)	0(0)	10(3.2)
Tot/capt.	80	69	47	62	52	310

Totales y porcentajes de distribución intra y extradomiciliar de los ejemplares colectados:

Paredes internas	6(2)
Paredes externas	15(5)
Vegetación	61(20)
Cebo humano	228(73)

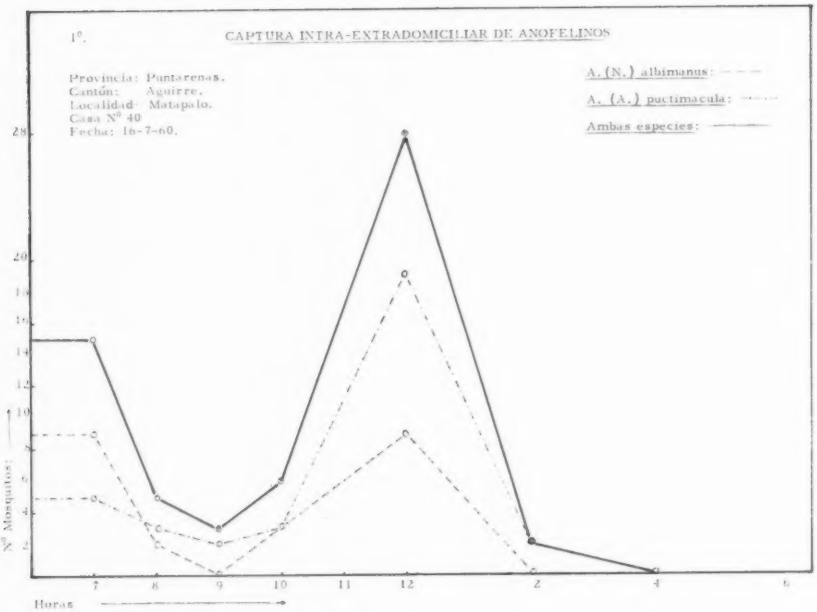
CUADRO 9

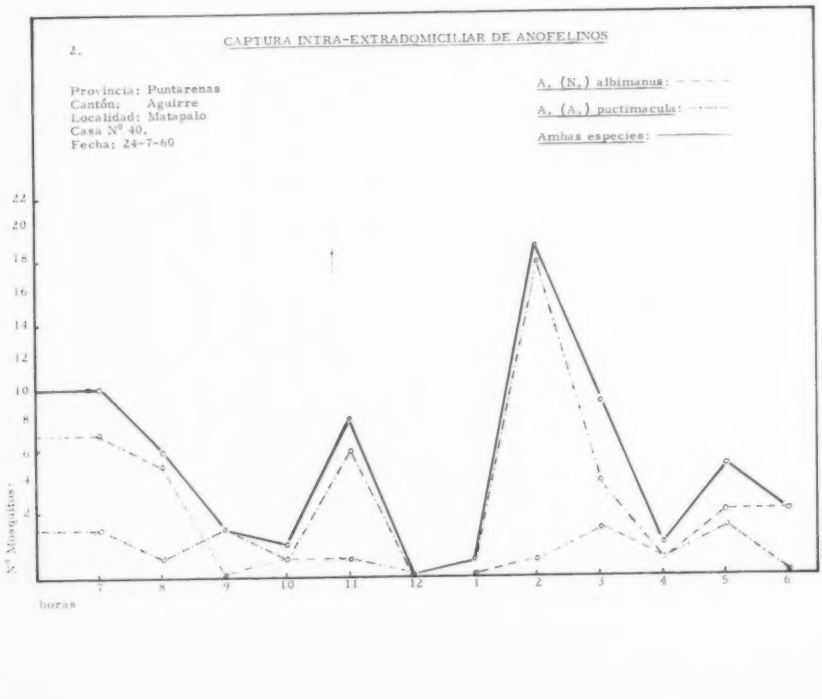
Totales y porcentajes generales por especie/casa:

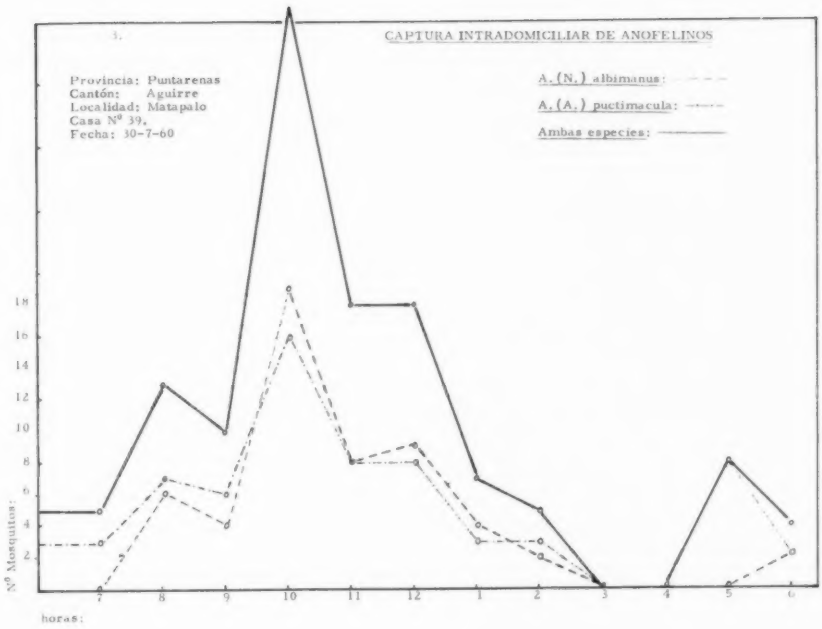
Especie:	*Casa No.*								
	29	31	36	42	43	47	48	50	Tot/porcent.
A. (N.) albimanus	149(38)	30(75)	225(81.5)	51(38.6)	91(59)	109(41)	116(80)	209(67.4)	980(57.1)
A. (A.) punctimacula	237(60.7)	10(25)	48(17.3)	80(60.6)	61(40)	157(58)	29(20)	90(29)	712(41.5)
A. (A.) pseudopunctipennis	3(1)	0(0)	1(0.4)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.3)	5(0.3)
A. (A.) apicimacula	1(0.3)	0(0)	2(0.7)	1(0.8)	1(1)	3(1)	0(0)	10(3.2)	18(1)
Tot/capt.	390	40	276	132	153	269	145	310	1715

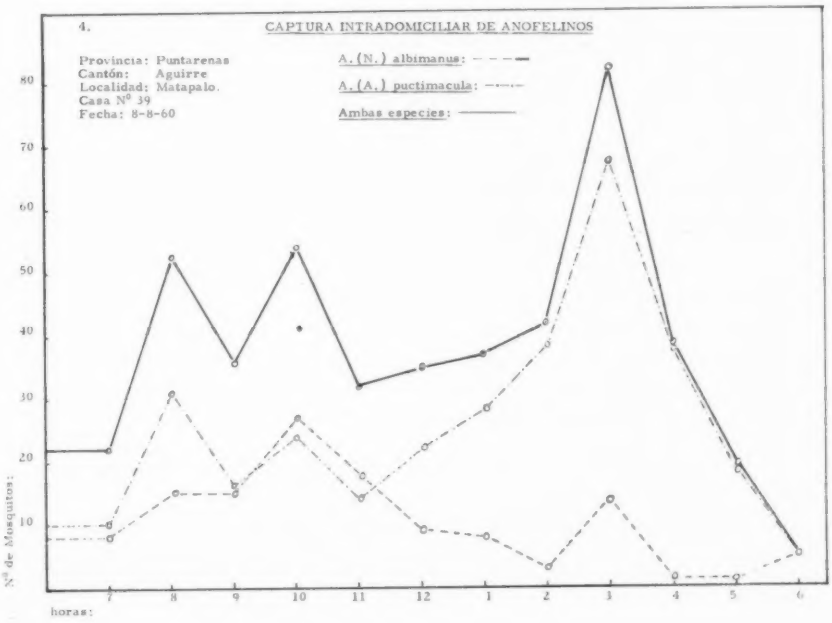
Totales y porcentajes generales de distribución intra y extradomiciliar de anofelinos en las varias casas estudiadas:

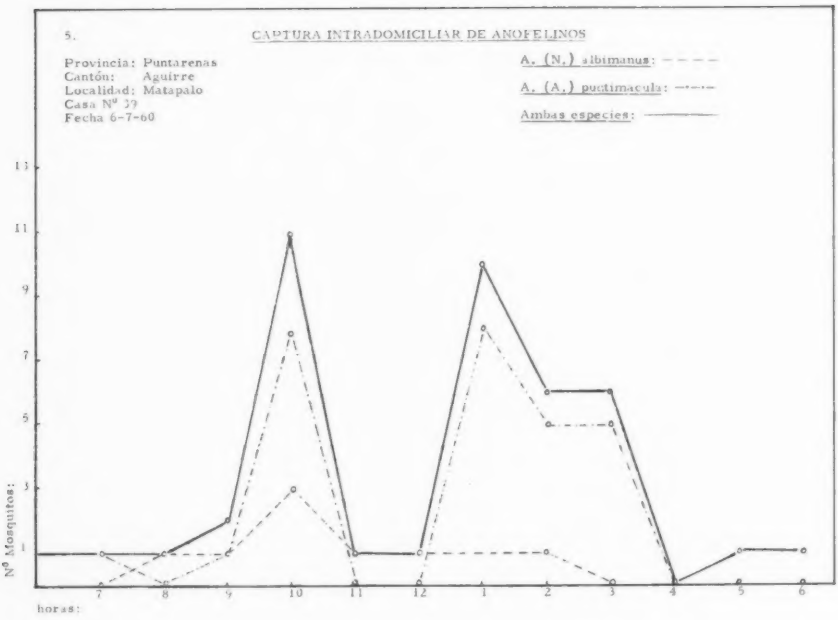
Paredes internas	195(11)
Paredes externas	151(9)
Vegetación	490(29)
Cebo humano	879(51)


1º.
CAPTURA INTRA-EXTRADOMICILIAR DE ANOFELINOS
Provincia: Puntarenas.
Cantón: Aguirre.
Localidad: Matapalo.
Casa Nº 40
Fecha: 16-7-60.
A. (N.) albimanus:
A. (A.) pictimacula:
Ambas especies:
Nº Mosquitos:
Horas


2.
CAPTURA INTRA-EXTRADOMICILIAR DE ANOFELINOS
Provincia: Puntarenas
Cantón: Aguirre
Localidad: Matapalo
Casa Nº 40.
Fecha: 24-7-60
A. (N.) albimanus:
A. (A.) pictimacula:
Ambas especies:
Nº Mosquitos:
horas


3.
CAPTURA INTRADOMICILIAR DE ANOFELINOS
Provincia: Puntarenas
Cantón: Aguirre
Localidad: Matapalo
Casa Nº 39.
Fecha: 30-7-60
A. (N.) albimanus:
A. (A.) puctimacula:
Ambas especies:
Nº Mosquitos:
18
16
14
12
10
8
6
4
2
7
8
9
10
11
12
1
2
3
4
5
6
horas:


4.
CAPTURA INTRADOMICILIAR DE ANOFELINOS
Provincia: Puntarenas
Cantón: Aguirre
Localidad: Matapalo.
Casa Nº 39
Fecha: 8-8-60
A. (N.) albimanus:
A. (A.) puctimacula:
Ambas especies:
Nº de Mosquitos:
80
70
60
50
40
30
20
10
7
8
9
10
11
12
1
2
3
4
5
6
horas:


5.
CAPTURA INTRADOMICILIAR DE ANOFELINOS
Provincia: Puntarenas
Cantón: Aguirre
Localidad: Matapalo
Casa Nº 39
Fecha 6-7-60
A. (N.) albimanus:
A. (A.) punctimacula:
Ambas especies:
Nº Mosquitos:
13
11
9
7
5
3
1
7
8
9
10
11
12
1
2
3
4
5
6
horas:

DISCUSION Y CONCLUSIONES:

De los datos consignados en el cuadro 9 notamos que a pesar de las enormes variaciones en densidades de cada especie/casa/captura, en cinco de las ocho casas, existió predominio general de *A. (N.) albimanus* sobre *A. (A.) punctimacula* y que el porcentaje correspondiente de *A. (N.) albimanus* en comparación con *A. (A.) punctimacula* en las casas estudiadas, revela un ligero predominio de la primera especie.

De la distribución de los anofelinos según las cuatro fuentes de captura se nota que la pared externa es la que ofreció la menor posibilidad de captura, siguiéndole por su orden, pared interior, vegetación y cebo humano; éste último ofreció como promedio, la mitad de las posibilidades en las capturas de las varias casas a pesar de haberse obtenido figuras tan disímiles como las de las casas 42 y 36.

Se hace difícil establecer comparaciones entre las curvas de las diferentes capturas, ya que las condiciones climatológicas fueron tan variables que los problemas de lluvias, temperaturas, y humedad relativa, influyeron en forma determinante no estándose en capacidad de relacionar tales factores, con cada captura, por el escaso número de las mismas.

El gráfico 1 revela, como hecho interesante, una máxima densidad coincidente en las dos especies en estudio a las 12 pm, siendo su punto de ascenso a las 10 pm y su punto de descenso a las 2 am. Se observa una mayor densidad del *A. (N.) albimanus* durante el período de 6-7 pm; por el contrario, una marcada superioridad del *A. (A.) punctimacula* durante el período 11 pm a 2 am.

El gráfico 2 revela una densidad anofelínica absoluta, máxima a las 2 am. Durante el período 6-8 pm se observa una densidad superior del *A. (N.) albimanus*.. El *A. (A.) punctimacula* muestra dos ascensos uno a las 11 pm y el otro a las 2 am; este último, el más significativo, se inicia a la 1 am. y termina a las 4 am.

El gráfico 3 revela una densidad anofelínica absoluta máxima y coincidente, a las 10 pm. Se observa una línea casi paralela entre las dos especies a través de las 12 horas de captura, con ligero predominio de *A. (A.) punctimacula.* Las dos especies muestran un ascenso marcado durante el período 9-11 pm alcanzando el máximo a las 10 pm.

El gráfico 4, muestra una densidad máxima del *A. (A.) punctimacula* a las 3 am. Se observa un predominio absoluto de *A. (A.) punctimacula.* Tres son los puntos máximos en la densidad absoluta; 8 pm, 10 pm y 3 am.

El gráfico 5 indica dos puntos de máxima densidad absoluta; a las 10 pm y 1 am. Existe predominio absoluto del *A. (A.) punctimacula.*

AGRADECIMIENTO

A los Sres., C. A. PACHECO, C. MURILLO, A. ZÚÑIGA y R. ECHEVERRI del personal de entomología del SNEM, por su participación en las diversas fases de nuestro estudio.

RESUMEN

Se presentan algunas observaciones de tipo cualitativo y cuantitativo sobre hábitos del *A. (N.) albimanus* y *A. (A.) punctimacula*, adultos, en una localidad con persistencia de transmisión palúdica en Costa Rica, con el propósito de encontrar las causas de la misma.

Se determinó la importante variación en densidad relativa que sufren las varias especies anofelinas por casa. Se determinó la importante actividad que es desplegada por *A. (N.) albimanus* y *A. (A.) punctimacula* durante las horas de la madrugada.

SUMMARY

Some qualitative and quantitative data are presented on the habits of adult *A. (N.) albimanus* and *A. (A.) punctimacula* as observed in Matapalo, Puntarenas, Costa Rica, a site of persistent malaria transmission. The several species of anopheline mosquitoes collected showed variations of relative density at each collection point; *A. (N.) albimanus* and *A. (A.) punctimacula* showed independent activity curves, shifting with the variations of temperature and weather conditions, and generally reaching a peak about 3 am.

REFERENCIAS

1. VARGAS, M.
   1960. *Algunos estudios epidemiológicos en una zona de alta transmisión a Plasmodium spp. (distrito Savegre-Puntarenas) Costa Rica.* Trabajo poligrafiado presentado a la 8va. Reunión de Directores de SNEM de Centroamérica, México, Panamá. San Salvador.

2. RACHOU, R., y M. MOURA-LIMA.
   1960. Comunicación personal.

Rev. Biol. Trop., 9(2): 171-185, 1961

A contribution to the study of Hookworm disease in infants

by

Carlos Sáenz Herrera* and Cecilia Lizano Madrigal**

(Received for publication September 16, 1961)

As pointed out in a previous publication (9), presented at the Second Central American Congress of Pediatrics, ancylostomiasis in infants shows great resistance to the usual forms of treatment. The fact should also be noted that severe forms of hookworm infestation in infants exhibit peculiar characteristics which make them different, to a certain extent, from the well known clinical pictures of cases in the pre-school age or older children and adults.

Let us briefly recall the acute and early manifestation of anemia, the frequent conservation of subcutaneous tissue, infiltration of the skin, anorexia, in some cases vomiting, and the typical aspect of the feces, normal in color or ranging from a pinkish tint to brick red, terracotta or wine red.

In the Department of Pediatrics of Hospital San Juan de Dios are admitted yearly, to the infants' wards, about 3000 patients aged from 0 to 18 months. LIZANO and DE ABATE (6), investigating incidence of intestinal parasites in children hospitalized in the Departament of Pediatrics of Hospital San Juan de Dios, showed that 2.7 per cent of children 0 to 18 months old give positive results for hookworm in feces, which would mean some 80 cases of ancylostomiasis in infants for each year. The severe character of this disease and the relatively poor results of therapy used in infants prolong the period of hospitalization; to emphasize this, we have included in our case studies the clinical histories of the children (cases Nos. 1 and 2) who remained one year or more in the hospital and were finally released with unsatisfactory blood counts and positive results for hookworm in the stool.

The usual therapeutic measures used in the treatment of infants (transfusions, iron therapy, a well balanced diet, and tetrachlorethylene in doses of 100

* Head, Department of Pediatrics, Hospital San Juan de Dios.
** Laboratories, Division of Pediatrics, Hospital San Juan de Dios, San José, Costa Rica.

mg. per kilogram not followed by a laxative) were so unsatisfactory that we sought for other anthelmintics which could give better results. It also seemed indispensable to decrease the number of transfusions indicated in each case, which, as we shall show further on, was excessively high.

This study comprises 14 cases of hookworm disease in infants, 2 of them corresponding to previous years.

In all cases with severe anemia there is intense paleness of the skin and mucous membranes. Edema is present in 35% of the cases, in appreciable form; however, the fact that weight curve is always low during the first days in the hospital seems to indicate that superficial edema is frequent although it may be sub-clinical.

In most cases there is tachycardia; a functional murmur was found in only five cases. We should recall here that in older children with a similar clinical picture there is a higher incidence of cardiac murmurs.

In many cases there were gross subcrepitant rales but chest x-rays were always negative. We may add that in two cases there were small tracheobronchial lymphadenitis, and in two other cases, enlargement of the heart was detected.

The abdomen was frequently enlarged, tense and painful. In most cases the liver was somewhat enlarged. The spleen was most often normal, but in one case was found to be greatly hypertrophied. The case was also positive for malaria *(P. falciparum)*.

Vomiting was recorded in 5 cases; but anorexia was present in 10 cases. In 11 cases, feces with microscopically perceptible blood were recorded. Most of these were liquid, but they soon became pasty, remaining fetid and requiring some time for the blood to disappear. All patients showed great mental depression upon admission to the hospital.

The records are presented below for some of the most significant cases regarding laboratory examinations and results of the therapy employed.

CASE Nº 1 (F.S.V.)

Remained in the hospital over a year, receiving 26 transfusions, iron therapy and 16 doses of tetrachlorethylene.

Feces were positive for hookworm before release. Weight remained almost the same during the first 8 months in the hospital.

On departure from the hospital the patient had 8 g of hemoglobin per 100 cc and less than 3.000.000 red cells, returning to the hospital some months later with a count of 1.000.000 red cells, 1.5 g of hemoglobin and heavily positive stool for hookworm.

CASE Nº 2 (J.R.L.D.)

This child remained one year in the infants' ward, receiving 6 transfusions, 8 doses of tetrachlorethylene and ferrous sulfate orally. Blood counts on leaving

were 8 g of hemoglobin and 2.800.000 red cells. Feces were consistently positive for hookworm.

CASE Nº 4 (M.P.B.)

Remained in the hospital 9 months. Received 5 transfusions. Four treatments with piperazine and 3 with tetrachlorethylene. Blood values remaining about equal, with high leucocytosis and eosinophilia. After three treatments with hexylresorcinol, feces were negative for hookworm with increased hemoglobin and decreased leucocytes and eosinophiles. Weight gained rapidly after hexylresorcinol treatment. The lowest leucocyte and eosinophile counts were recorded during measles.

CASE Nº 6 (M.M.C.)

Remained 9 months in the hospital. Twelve transfusions, iron and vitamin B-12 therapy given. Two doses of piperazine and 5 of tetrachlorethylene had no noticeable effects on the blood values or the fecal hookworm egg counts. Four heavy doses of hexylresorcinol resulted in negative stool egg counts and in a rapid favorable effect on red cells counts and hemoglobin content; there was also a rapid gain in weight. Leucocytosis and eosinophilia decreased. Liver function tests on leaving the hospital were normal.

CASE Nº 7 (C.L.A.R.)

Eight months in the hospital. Received 8 transfusions. Four doses of tetrachlorethylene, ferrous sulfate and liver extract. Four hexylresorcinol treatments had the same favorable effects as in foregoing cases with regard to blood picture, weight curve, and elimination of hookworm after the treatments.

CASE Nº 8 (W.G.P.)

Remained in the hospital 7 months. Received 4 transfusions, iron therapy and vitamin B-12; this treatment resulted in improved blood values and decreased egg counts without eliminating the parasites. A heavy trichocephalosis was cured with hexylresorcinol enemas. Gain in weight and negative stool exams for hookworm were the results of treatment with heavy doses of hexylresorcinol.

CASE Nº 9 (G.Z.CH.)

Five months in the hospital. One transfusion and iron therapy; 2 doses of tetrachlorethylene, with no effect on hookworm egg counts. Three treatments with hexylresorcinol in heavy doses caused disappearance of eggs from feces. Rapid improvement in blood values and weight followed.

CASE Nº 11 (Z.V.C.)

Remained 3 months in the hospital. Received three transfusions, and iron therapy, three doses of tetrachlorethylene, with no significant effect on blood values or fecal hookworm egg counts. Five hexylresorcinol treatments in heavy doses resulted in sharp increase of red cells and hemoglobin, in decreased leucocyte counts, and less marked decrease in eosinophile counts; negative stool exams and satisfactory gain in weight.

SOME REMARKS ON HEMATOLOGY AND PARASITOLOGY

Parasitological and hematological tests were made before, during and after treatments. The first parasitological datum recorded was the presence of hookworm in direct examination of feces with physiologic saline solution added. Egg counts were made following Stoll's method (cited in ANIDO & ANIDO, 1).

Hematological examinations were carried out in blood obtained from a finger, using for hemoglobin figures the Sahli-Adams hemoglobinometer and making the differential leucocyte count on Schilling's classification.

Blood values in infants with hookworm do not differ much from those of older children. In both groups, almost all cases show microcytic and hypochromic anemia. Leucocytosis is present, as well as eosinophilia. The manifestation in these children, over a long period of time, of low hemoglobin values and red cell counts, leucocytosis, and, to some extent, eosinophilia, was due to the lack of an effective anthelminthic for the total elimination of hookworms.

As the graphs show, most of our cases were children who remained with anemia for several months in spite of numerous transfusions (26 in case Nº 1), iron therapy, a well balanced diet and anthelmintic treatment. There are case histories of infants who, after a year of hospitalization, were released slightly less anemic than they arrived, still with abundant hookworm eggs in their feces.

Our records show that it was not until the hookworm were eliminated that a remarkable change occurred toward normalization of hematic values. At the same rate that we approached the total elimination of hookworms we came closer also to normal values in hemoglobin, erythrocytes, leucocytes and differential

NAME : FRANCISCO SEGNINI VENEGAS
AGE : 4 MONTHS
N° 19054

ADMISSION : AUGUST 25 - 1952
DISCHARGE : SEPTEMBER 11 - 1953

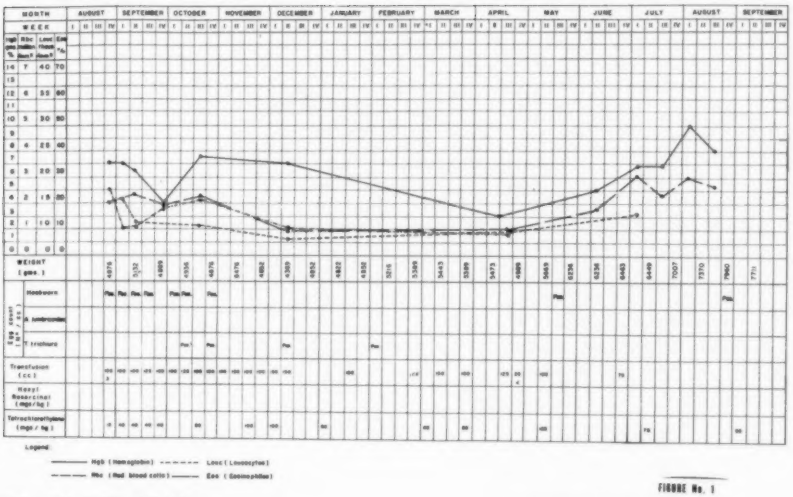


FIGURE No. 1

NAME : JOSE RAMON LOBO DURAN
AGE : 7 MONTHS
N° 24878

ADMISSION : OCTOBER 22 - 1953
DISCHARGE : FEBRUARY 19 - 1955

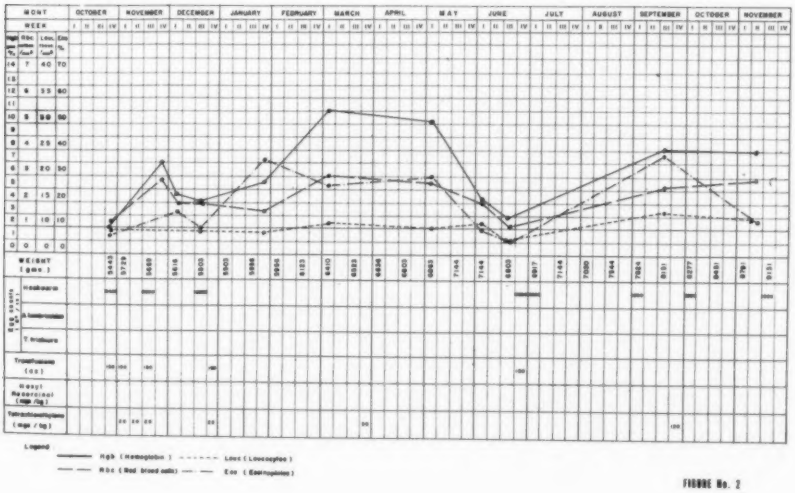
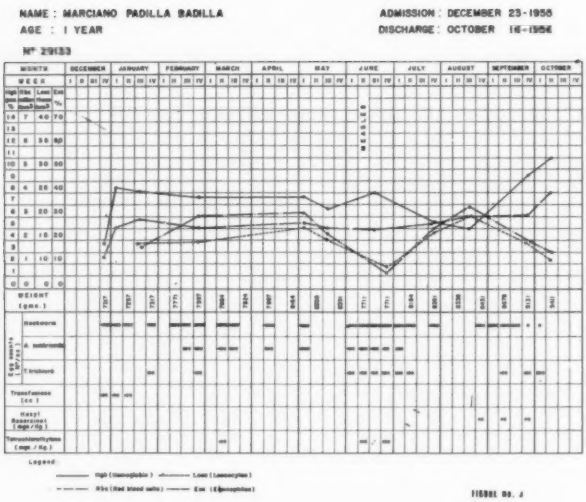


FIGURE No. 2



NAME: MIRIAM MORA CUBILLO
AGE : 1 YEAR
Nº 621

ADMISSION: JANUARY 8 - 1956
DISCHARGE: OCTOBER 15 - 1956

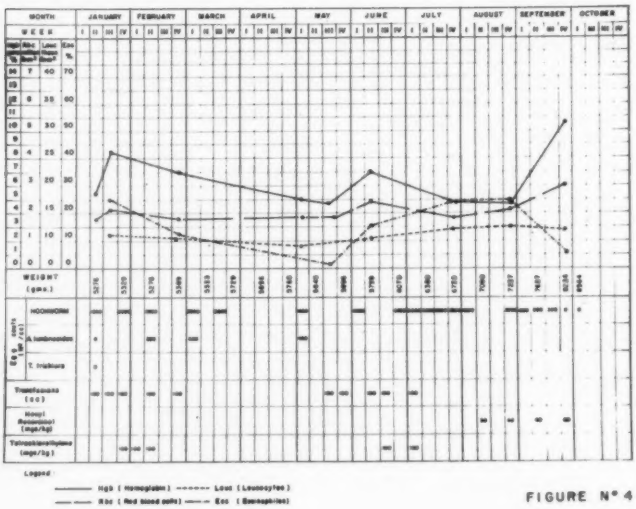


FIGURE Nº 4

NAME : CARLOS LUIS ARIAS ROJAS
AGE : 7 MONTHS
N° 1820

ADMISSION : JANUARY 20 - 1956
DISCHARGE : OCTOBER 6 - 1956

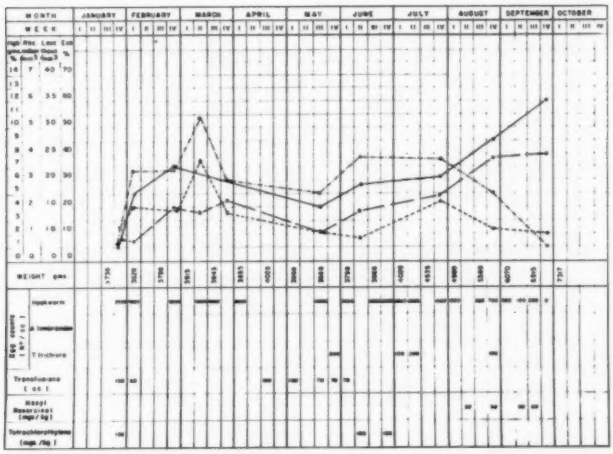


FIGURE N° 5

NAME : WALTER FCO. GUERRERO PRADO
AGE : 13 MONTHS
N° 6106

ADMISSION : MARCH 9 - 1956
DISCHARGE : OCTOBER 4 - 1956

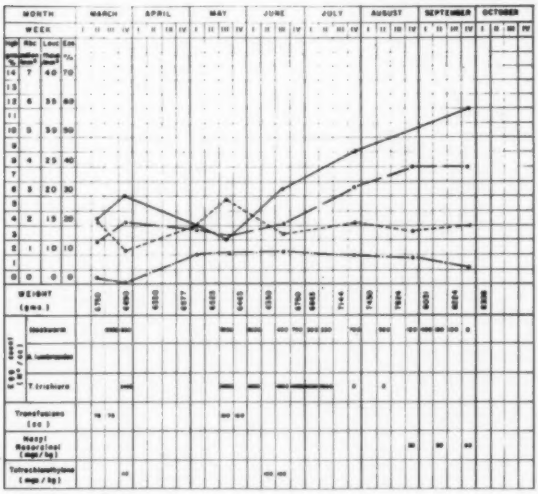


FIGURE N° 6

NAME: GERARDO ZAMORA CHAVES ADMISSION: MAY 9 - 1956
AGE : 4 MONTHS DISCHARGE: OCTOBER 31 - 1956
N° 11261

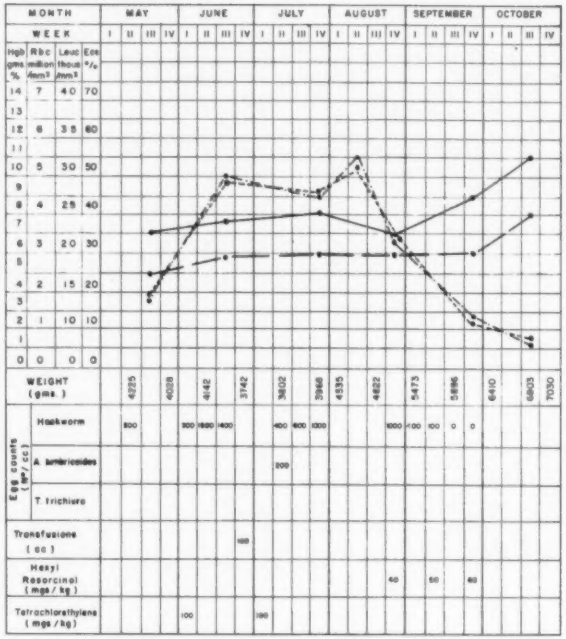


FIGURE No. 7

NAME: ZENEIDA VARGAS CALDERON
AGE : 9 MONTHS ADMISSION: JULY 28 - 1956
N° 18224 DISCHARGE: NOVEMBER 11 - 1956

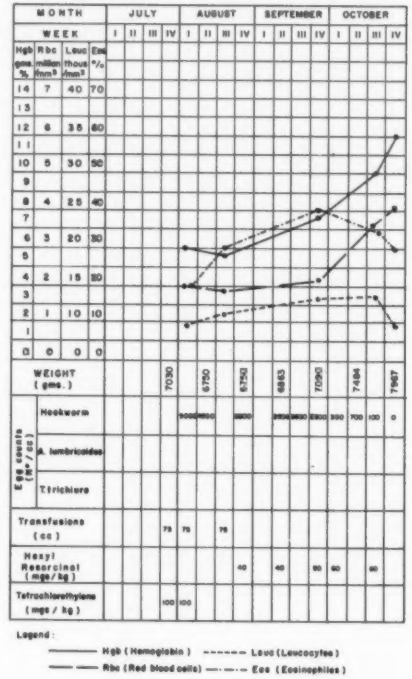


FIGURE No. 8

count. There is an appreciable divergence in the curves for hemoglobin and red cells on the one hand, and for leucocytes and eosinophiles on the other, all of them tending to normal values after the administration of heavy doses of hexylresorcinol.

Experience has taught us that the effects of parasitism can not be made to disappear without the elimination of parasites, in this case hookworms. None of our findings supported the opinions of authors like GARRAHAN (5) who stated that with a good diet and iron therapy alone, the clinical picture which was due to no other cause than the direct and indirect action of the hookworm could be made to disappear. It is likely that even the complete elimination of the parasite would not restore the infants to normal health immediately.

Success depends on the joint action of elimination of the parasites and administration of iron and a well balanced diet. Logic points to this conclusion and the results support it.

We have not had occasion to observe cases of hookworm disease complicated by anemia tending to aplasia as reported by some authors, including GARRAHAN (5). In studies made by MIRANDA (7), in which infants were included, he showed that there is active regeneration of the erythrocytic series in the bone marrow of hookworm patients. He found no relation of the anemia to the number of nucleated elements or to the proportion of inmature cells of the erythrocytic series in the bone marrow.

In our cases we found initial hemoglobin values as low as 1 g per cent and 800.000 erythrocytes per mm^3.

After administration of hexylresorcinol, and even before complete elimination of the hookworms, the increase in hemoglobin and red cell values was clearly noticeable. As complete elimination of the parasites was achieved, values reached normal or nearly normal figures. Release of the children was indicated when they reached 12 g per cent or more hemoglobin, and 4.000.000 or more erythrocytes per mm^3.

Leucocyte values were above the maximum accepted as normal, as is always observed in hookworm cases seen in our Departament. No cases of leucopenia were found, such as GARRAHAN (5) reported following an initial leucocytosis. It was not until we were close to complete elimination of the hookworms that leucocyte values tended to return to normal.

Eosinophilia was not always present when the children entered the hospital; the higher values were found some time after admission. In many cases eosinophiles in circulating blood increased after anthelmintic and iron therapy and transfusions had begun. The proportion of eosinophiles decreased in almost parallel fashion to the leucocyte values, that is, when the parasites were nearly eliminated and hemoglobin and erythrocyte values were approaching normal.

TREATMENT

From the therapeutic viewpoint, the effectiveness of oral hexylresorcinol, given in doses higher than that previously recommended, was evident. As early

as 1934 BROWN (2) pointed out that while tetrachlorethylene is more effective than hexylresorcinol, and is preferred for mass treatment, the latter is preferable in some individual cases, as in the treatment of children, weakened patients, and pregnant women. He also pointed out that except for possible local irritation, there is no contraindication for the oral administration of hexylresorcinol.

In 1941 FAUST (4) also stated that tetrachlorethylene should be the preferred drug, but recommended the use of Caprokol (hexylresorcinol), considering its administration safer in anemic or undernourished children. He pointed out that no good anthelmintic could be used safely, without the necessary medical control, with the possible exception of hexylresorcinol crystoids.

We came to have a similar opinion in our work in 1955 (9) in which we stated our preference for the use of tetrachlorethylene without a laxative in infantile ancylostomiasis, according to the experience of CARR *et al.* (3). However, in those cases, negative results for hookworm in feces were rarely obtained, i. e. only in 5 out of 22 cases treated with tetrachlorethylene in repeated doses of 100 mg per kilogram of weight (9). Besides, at that time we stressed the poor response obtained in heavily parasitized infants to the various anthelmintics prescribed. In the same publication we stressed that the use of tetrachlorethylene orally, and even after the necessary intubation, did not give really satisfactory results.

We decided therefore to increase progressively the doses of hexylresorcinol, usually recommended as 10 mg per kilogram of body weight. In previous experiences even this dosage had given fairly satisfactory results. Much larger doses such as 50 mg, and recently, even 100 mg per kilogram of body weight were given, focusing attention not so much on the physical characteristics of the patient, such as age, weight, or size, but rather on the doses required to attack the parasites effectively. We have thus come to give total doses of approximately 500 to 600 mg hexylresorcinol without having to restrict them according to age or weight. They were given in 0.10 g pills which the nurse causes to be swallowed by placing them at the back of the tongue of the child, giving at the same time a spoonful of water. In no case did we have any difficulty in having the drug swallowed, although admittedly the procedure does not have a sufficient margin of safety for home use.

Tables 1 and 2 are presented to allow comparison of results obtained with tetrachlorethylene and hexylresorcinol.

In the tables a remarkable difference may be seen between the results of treatment with tetrachlorethylene and hexylresorcinol in infants. With the former drug, given in doses of from 20 to 120 mg per kilogram weight, we obtained no favorable results, as the mean number of hookworm eggs per gram of feces changed from 3.768 to 3.240 after treatment. It should be noted here that response of preschool children with hookworm to treatment with tetrachlorethylene in high doses and without a laxative, is quite satisfactory or at least much better than that of infants, as shown by the mean figures of 3.672 eggs per gram feces before, and 1.218 after treatment, values shown in our study presented at the previous Central American Pediatrics Congress (9).

TABLE 1

EGG COUNT BEFORE AND AFTER TREATMENT WITH TETRACHLORETYLENE (ORALLY)

CASE Nº	NAME	COUNT BEFORE TREATMENT Eggs/g feces	TREATMENT			COUNT AFTER TREATMENT Eggs/g feces
			Doses mg	Nº	Doses mg/Kg	
2	J.R.L.D.	3.400	100	2	20	5.800
"	" " " "	5.800	150	1	25	10.800
"	" " " "	10.800	150	2	30	2.800
"	" " " "	2.800	1.000	3	120	1.900
3	G.Ch.M.	900	1.000	1	100	600
"	" " "	600	1.000	1	100	100
4	M.P.B.	2.500	800	1	100	3.000
"	" " "	3.000	850	1	100	11.100
"	" " "	11.100	850	1	100	4.000
5	J.M.G.	1.300	850	1	120	2.800
"	" " "	4.200	1.000	1	120	2.300
"	" " "	2.300	1.000	1	100	700
6	M.M.C.	7.900	650	1	100	3.000
"	" " "	3.000	650	1	100	2.500
7	C.L.A.R.	6.100	500	1	100	3.500
"	" " " "	3.500	500	1	100	1.600
8	W.G.P.	2.500	300	1	40	2.900
"	" " "	2.900	700	1	100	400
"	" " "	400	700	1	100	300
9	G.Z.Ch.	500	450	1	100	1.400
"	" " "	1.400	450	1	100	8.600
10	A.S.V.	6.000	1.000	2	120	1.200
AVERAGE		3.768				3.240

TABLE 2

EGG COUNT BEFORE AND AFTER TREATMENT WITH HEXYLRESORCINOL CRYSTOID'S (ORALLY)

Nº CASE	NAME	COUNT BEFORE TREATMENT Eggs/g feces	TREATMENT		COUNT AFTER TREATMENT Eggs/g feces
			Doses mg	Doses mg /Kg	
4	M.P.B.	4.000	400	40	1.800
"	" " "	1.800	400	40	1.100
"	" " "	1.100	600	60	0
5	J.M.G.	750	500	40	200
"	" " "	200	500	40	0
6	M.M.C.	250	500	50	0
7	C.L.A.R.	150	400	60	0
8	W.G.P.	100	600	60	0
9	G.Z.Ch.	100	400	60	0
10	A.S.V.	1.200	500	60	100
"	" " "	100	500	60	50
"	" " "	50	500	60	0
11	Z.V.C.	3.100	400	50	2.400
"	" " "	2.400	500	60	700
"	" " "	700	500	60	0
12	C.V.C.	4.700	500	100	200
13	G.Z.O.	5.800	400	60	400
AVERAGE		1.558			432

In the tables it can be seen that some of our cases treated with hexylresorcinol had received previously one or more and up to five doses of tetrachlorethylene without the desired results (Case Nº 6). The data of tabla 2 show that, at least in infants, hexylresorcinol is the drug of choice for treatment of severe forms of hookworm disease; the minimum effective dose must still be investigated, although it appears to be between 500 and 600 mg, whatever the age or the weight of the infant.

These amounts gave us the best results to date in our search for a solution to the problem of infants' hookworm disease. All children treated with such doses showed no hookworm eggs in their feces.

Even though hexylresorcinol, according to many authors, including FAUST (4), is one of the few drugs which may be used without medical supervision, we preferred to begin our experiments with low doses, such as 150, 200 and 300 mg. Most cases showed a decrease in the number of eggs in fecal matter, although not completely satisfactory

Thus, hexylresorcinol in doses below 400 mg, whatever the weight and age of the infant has no advantage over tetrachlorethylene. We obtained no negative counts after several doses of 100 to 300 mg. It was doses of 400 to 600 mg, which, given singly or repeatedly, achieved the complete elimination of the parasite in question. We have therefore included in table 2 the most significant cases, that is, those treated with doses which were successful in eliminating the hookworms. All children under study showed good tolerance for the anthelmintic drug; in only one case there was vomiting several hours after the patient had been given the dose, and there were no other side effects.

The cases which were given transfusions whenever indispensable, ferrous sulfate elixir U.S.P., in doses of approximately 100 mg per kilogram of body weight (which we consider advantageous because of its high citric content favoring assimilation of iron) (8) and during the last weeks, hexylresorcinol, as described above, reacted quickly and favorably. The general condition improved rapidly, as may be noted from an increase in weight of 200 or more grams weekly.

These first results reported lead us to expect a remarkable shortening of the period of hospitalization of infant hookworm cases and of the possibility of rendering their feces negative for hookworm by means of heavy doses of hexylresorcinol and of hemotherapy and iron therapy, combined with a good diet and attention to the patients morale.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

Fourteen cases of serious hookworm disease in infants (0 to 18 months old) are studied, in an effort to analyse the unsatisfactory results obtained with the therapy we had been using. The clinical aspects and laboratory analysis results are discussed. The results given by tethrachlorethylene and hexylresorcinol

crystoids as anthelmintic are compared. Heavy doses of hexylresorcinol given orally have proved to be superior to other drugs as anthelmintics in infants. The good tolerance and apparent non toxicity of the substance are stressed.

Good results are reported with a treatment including hexylresorcinol, transfusions, iron therapy, a well balanced diet and psychotherapy, regarding the general condition of the child and its blood values. With this treatment we obtained an important shortening of the period of hospitalization in serious forms of hookworm disease in infants. For the first time we can report a fully satisfactory condition on release of children hospitalized with this disease.

RESUMEN

Se estudian catorce casos de anquilostomiasis seria en niños de 0 a 18 meses, con el fin de analizar los resultados poco satisfactorios obtenidos con los métodos terapéuticos empleados hasta ese momento. Se comparan los resultados obtenidos con tetracloretileno y hexilresorcinol. Dosis altas de hexilresorcinol por vía oral dan mejores resultados que otras drogas como antihelmínticos para infantes. Se hace hincapié en la buena tolerancia y ausencia de toxicidad de la droga.

Se obtuvieron buenos resultados en cuanto al estado general del niño y a los valores hematológicos, con un tratamiento que incluía hexilresorcinol, transfusiones sanguíneas, ferroterapia, una dieta bien balanceada y psicoterapia. Con este tratamiento se puede obtener un acortamiento importante del período de hospitalización en formas serias de anquilostomiasis en infantes. Por primera vez podemos informar de condición completamente satisfactoria de niños con tal enfermedad, al salir del hospital.

REFERENCES

1. ANIDO, V., & G. ANIDO.
   1943. *Laboratorio clínico; técnica e interpretaciones.* Tomo II, xii + 990 pp. Ed. Cultural S. A., Habana, Cuba.

2. BROWN, H. W.
   1934. Intestinal parasitic worms in the United States; their diagnosis and treatment. *J. Am. Med. Ass.*, 103(9) :651-660.

3. CARR, H. P., M. E. PICHARDO SARDÁ & NADINE AUDE NÚÑEZ.
   1954. Anthelmintic treatment of uncinatiasis. *Amer. J. Trop. Med. & Hyg., 3(5):* 495-503.

4. FAUST, E. C.
   1941. The chemotherapy of intestinal parasites. *J. Am. Med. Ass.*, 117(16): 1331-1335.

5. GARRAHAN, J. P.
   1956. *Medicina Infantil: Pediatría y Puericultura.* 8ª ed. xviii + 1247 pp. Librería "El Ateneo" Ed. Buenos Aires, Argentina.

6. LIZANO, CECILIA & J. DE ABATE.
1953. Incidencia del parasitismo intestinal en los niños de la Sección de Pediatría del Hospital San Juan de Dios. *Rev. Biol. Trop.*, 1(2): 223-233.

7. MIRANDA, M.
1956. Contribución al estudio de la médula ósea en niños con anquilostomiasis y tricocefalosis. *Rev. Biol. Trop.*, 4(1): 69-78.

8. PEÑA CH., A., R. PIEDRA, C. SÁENZ & E. CORDERO.
1945. Influencia de la acidez gástrica en el metabolismo del hierro de las anemias secundarias de la malaria y anquilostomiasis del niño. *Rev. Med. Costa Rica*, 6(132): 383-387.

9. SÁENZ HERRERA, C., M. E. CALVO B., E. CORDERO, CECILIA LIZANO, J. ARGUEDAS & ML. E. CHAVARRÍA.
1955. Clínica y terapéutica de la anquilostomiasis y de la tricocefalosis infantil. *Rev. Biol. Trop.*, 3(2): 135-160.

Rev. Biol. Trop., 9(2): 187-207, 1961

Céstodos de Vertebrados. VIII.

por

Luis Flores-Barroeta* Esperanza Hidalgo-Escalante**

y

Fernando Montero-Gei***

(Recibido para su publicación el 18 de Setiembre de 1961)

Se incluyen en esta octava contribución, ejemplares de céstodos colectados en la República de Costa Rica y en México. El material está compuesto por preparaciones totales de dichos ejemplares, así como también de cortes histológicos de los mismos y de los órganos parasitados.

Paranoplocephala infrequens (Douthitt, 1915)
(Figs. 1, 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11).

El escólex es grande y bien desarrollado, de sección más o menos cuadrangular y mide 1,192 - 1,698 mm de longitud y 1,654 - 2,205 mm de ancho. Las ventosas son casi esféricas, prominentes, de paredes fuertemente musculosas y miden en su oquedad 0,253 - 0,373 mm de largo por 0,358 - 0,402 mm de ancho. Son de cuello muy corto.

La cutícula es gruesa y provista de espinas triangulares, carácter que se observa a lo largo de todo el estróbilo. Este no es muy largo y en él se ven tres tipos de segmentos, los inmaduros de sección rectangular, pero con tendencia a forma trapezoidal, para continuar con esa forma hasta aquellos anillos en que el útero se presenta saculado, y los cuales son rectangulares y menos anchos, por lo que el estróbilo se deprime en esta zona.

Este céstodo es un animal protándrico y junto a los testículos cuyos esbo-

* Departamento de Microbiología y Parasitología, Escuela Superior de Medicina Rural, I.P.N., México D. F.
** Escuela Nac. de Ciencias Biológicas, I.P.N., México D. F.
*** Ministerio de Salubridad Pública, San José Costa Rica.

zos ya se ven desde los proglótidos inmaduros, aparecen además otros órganos sexuales.

Los proglótidos maduros son trapezoides, con atrios genitales de un solo lado; tienen 0,343 - 0,358 mm de longitud en su parte media y 1,728 - 1,758 mm de anchura a la altura de la bolsa del cirro. Los testículos, de situación antiporal, 23 a 37 por anillo, son órganos esféricos que se encuentran colocados desde el borde antiporal del ovario hasta el conducto excretor longitudinal correspondiente; miden 0,049 - 0,083 mm de largo y 0,049 - 0,083 mm de ancho. Su estructura microscópica es semejante a la que hemos indicado anteriormente (7) y se encuentran unidos por finos conductillos de los vasa eferentia que se reunen posteriormente en el conducto deferente.

Este es un conducto grueso y ligeramente contorneado, que se ensancha para producir un receptáculo de forma variable, que es la vesícula seminal externa y que está situada en la zona que se encuentra entre el complejo femenino y la bolsa del cirro; otras veces la hemos observado lateralmente a este órgano.

El conducto deferente sale nuevamente de esta vesícula y se introduce en la bolsa del cirro, ensanchándose nuevamente para constituir la vesícula seminal interna, de forma más o menos ovalada y en la que se ven numerosos espermatozoides; en el interior de la bolsa se ve todavía el conducto deferente poco antes de constituirse en el cirro u órgano copulador.

El cirro es alargado, de paredes gruesas y musculosas y recubierto de fuertes y puntiagudas espinas de forma triangular; en su interior se distingue con claridad el conducto eyaculador, que es la continuación del deferente y que desemboca en el atrio genital junto al orificio vaginal.

La bolsa del cirro es piriforme aunque ligeramente alargada, de paredes gruesas y musculosas; mide 0,358 - 0,447 mm de longitud y 0,134 - 0,149 mm de anchura. Rodeando a la vesícula seminal interna y al cirro se encuentra la glándula prostática, constituída por multitud de células piriformes comunicadas por pequeños conductillos que le dan al conjunto una disposición arborescente con mayor frondosidad en la zona de la bolsa próxima al atrio genital.

El aparato genital femenino se inicia simultáneamente a la aparición de los testículos; se observa perfectamente el esbozo del ovario y de la glándula vitelógena así como el de los conductos que van a formar el útero, la región del ootipo y el que constituye el receptáculo seminal, el cual se presenta desde los proglótidos inmaduros. La vagina también se ve desde los segmentos próximos al cuello.

El ovario es lobulado y ya su contorno empieza a delimitarse por las células mesenquimatosas del anillo inmaduro; la lobulación se intensifica con la evolución del estróbilo y así, en los proglótidos perfectamente maduros, el órgano ocupa la longitud del segmento y se extiende transversalmente en el mismo. La glándula vitelógena es posterior y dorsal al ovario; es más o menos arriñonada y se le ve descansar muchas veces sobre el borde intersegmental. El viteloducto se une al oviducto después de varias vueltas y constituyen ambos un ensanchamiento en forma de pera que es el ootipo, que en algunas ocasiones lo hemos visto lleno de estructuras alargadas o ligeramente espiraladas que parecen ser espermato-

zoides; en otros anillos no hay este ensanchamiento, pero en una u otra forma, de la unión de estos conductos sale uno que va hacia arriba y que se divide para constituir el útero transversal y otro que va en dirección del atrio genital constituyendo primero el receptáculo seminal piriforme de gran tamaño, 0,224 - 0,253 mm de largo por 0,149 - 0,209 mm de ancho y que ocupa en la misma forma que el ovario, y coincidiendo con éste, la longitud de los proglótidos maduros; también es de menor tamaño y en ambos casos siempre está lleno de espermatozoides. El receptáculo seminal es de paredes delgadas y se continúa con la vagina que desemboca en el orificio femenino, lateral y posteriormente al masculino en el atrio genital; la última porción de este conducto se engruesa ligeramente en comparación con el que le precede y se ven en él numerosas células piriformes con un núcleo central.

El atrio genital, de sección irregular, es de posición media y posterior en los anillos; es de paredes gruesas y fuertemente musculosas y el borde espinoso de la cutícula se introduce en él confundiéndose con las que recubren el cirro cuando éste se encuentra desenvaginado.

Los proglótidos grávidos presentan la forma trapezoidal clásica, siendo más anchos que largos; en ellos se ve el útero transversal con lobulaciones orientadas en todas direcciones, siendo las más grandes y más desarrolladas aquellas situadas del lado antiporal; dichas lobulaciones no sobrepasan el límite de los conductos excretores, inclusive en el lado poral. No se ven ya en estos segmentos muchos de los órganos sexuales reseñados más arriba, y así los testículos van desapareciendo poco a poco en la misma forma que el ovario y lo único que permanece de una manera más o menos constante es la bolsa del cirro y el receptáculo seminal.

Es en los últimos segmentos de la cadena estrobilar en donde se encuentran los huevecillos perfectamente desarrollados, los que presentan una forma esférica y en su interior al embrión hexacanto con el aparato piriforme característico.

Hay dos conductos excretores longitudinales por segmento.

HUÉSPED: *Sylvilagus brasiliensis.*

LOCALIZACIÓN: Conductos biliares.

LOCALIDAD GEOGRÁFICA: Aserrí, Provincia de San José, Costa Rica.

EJEMPLARES: En la colección particular del primer autor en México, D. F., con el número 181-21.

COMENTARIOS: La presencia de estos gusanos en los conductos biliares de *Sylvilagus,* origina un proceso histopatológico, que podría resumirse en la forma siguiente:

1.—Proliferación del epitelio del conducto biliar.

2.—Descamación de dicho epitelio

3.—Formación de criptas en los conductos biliares y producción de nuevos capilares biliares.

4.—Fibrosis alrededor del epitelio, en la que se descubre una fuerte infiltración leucocitaria.

En las preparaciones examinadas no se descubrieron huevecillos en tejido hepático.

Oochoristica didelphidis (Rudolphi, 1819) Zschokke, 1904
(Figuras: 12, 13, 14, 15).

El escólex presenta una forma muy curiosa, pues las ventosas se han alineado en su porción anterior como si fueran dedos de un pie. Mide el escólex 1,293 - 1,293 mm de anchura a nivel de estos órganos adhesivos, los que son esféricos, provistos de un reborde muscular muy grueso y tienen 0,209 - 0,224 mm de longitud y 0,209 - 0,209 mm de anchura. No parece haber cuello, ya que muy pronto se inicia la segmentación del estróbilo.

Los proglótidos maduros son de forma perfectamente trapezoidal; son más anchos que largos, 1,028 - 1,267 mm de ancho y 0,373 - 0,477 mm de largo, aunque su longitud aumente ligeramente a lo largo de la cadena del estóbilo hasta aquellos segmentos en que por la aparición de los huevecillos, debe considerarseles cómo grávidos; que son inicialmente trapezoidales, pero evolucionando hacia la forma cuadrangular. En ellos aparecen otros órganos además del útero con huevecillos, los que se distinguen en todo el anillo.

La cadena de proglótidos presenta anomalías en la sucesión de los mismos, como la intercalación de un segmento no muy bien desarrollado en dos lugares diferentes del estróbilo y en el que se ve apenas algunos órganos genitales.

Los testículos son esféricos; se sitúan en los proglótidos maduros por debajo del complejo femenino y desde el borde inferior intersegmental hasta alcanzar el mismo nivel en los lóbulos del ovario son en número de 27-35 por segmento y miden 0,037 - 0,062 mm de longitud por 0,029 - 0,042 mm de anchura. Los vasa eferentia son una red de conductillos que, procedentes de las gónadas masculinas, se dirigen hacia el complejo genital femenino, para reunirse en esta altura en un conducto más grueso que es el deferente y que se observa por arriba del borde anterior del ovario.

El conducto deferente, de paredes gruesas, es enrollado en un principio y más o menos recto en aquella parte que se introduce a la bolsa del cirro; éste es piriforme, con base muy ancha, grueso y musculoso, que mide 0,071 - 0,096 mm de largo y 0,046 - 0,049 mm de ancho. Ya en el interior de la bolsa, pronto se diferencia este conducto para formar el cirro, de gran musculatura y recubierto por pequeñas espinas. Las zonas internas laterales de la bolsa del cirro están ocupadas por la glándula prostática, constituída por folículos piriformes con disposición arborescente y en mayor cantidad en la porción estrecha de esta bolsa.

El complejo genital femenino está integrado por el ovario lobulado más o menos central, pero más bien del lado poral. La estructura fundamental de este órgano es el ovocito más o menos esférico, que se agrupa en conjuntos que constituyen una bolsa y ellos a su vez unidos en racimo forman el lóbulo.

La glándula vitelógena, de posición inferior al ovario, está constituída por pequeños y escasos folículos, distribuídos a manera de racimo y unidos todos por conductillos que se entremezclan formando una malla más o menos espesa, los viteloductos, que se reúnen en un conducto de mayor calibre que al emerger de la glándula se dirige hacia arriba dando varias vueltas para unirse al oviducto en un plano por debajo de aquel en que está situado el ovario.

Del ootipo sale un conducto de luz bastante amplia en dirección del atrio genital y que se ensancha en su recorrido para formar el receptáculo seminal femenino, bolsa alargada que está situada a diferentes alturas del trayecto de este conducto; éste finalmente se angosta en su luz, se engruesan sus paredes y constituye la vagina, que desemboca en el poro genital en una posición lateral y posterior con respecto al poro genital masculino.

El útero se origina en el mismo plano medular en que se encuentra el ootipo; no es persistente en forma de un tubo transversal, sino que se ramifica para producir una red que se orienta hacia los lados del segmento, red que se fragmenta en conductos de diferente longitud y anchura y en donde se ven huevecillos separados uno del otro a distancias variables, lo que comprueba la evolución uterina. Los huevecillos se encuentran en diferentes estados embrionarios. En aquellos conductos de las zonas anterior y lateral a los lóbulos del ovario se ven con el embrión todavía no desarrollado; así los hemos observado entre la glándula vitelógena y el ovario, y muchas veces se confunden con los testículos y solamente en los planos francamente laterales de los anillos se presentan perfectamente desarrollados con el embrión de forma esférica y con 6 ganchos refringentes y característicos. Cada huevecillo está rodeado de una membrana que constituye la cápsula ovígera y que es el resultado final de la fragmentación uterina. Los huevecillos no tienen aparato piriforme.

El atrio genital es irregularmente alterno, de situación anterior en los segmentos; se abre en la base de la cutícula, es de sección más o menos circular, y su amplitud está en relación con la anchura del cirro.

Los conductos excretores son dos longitudinales por cada lado del segmento; son de luz estrecha y de paredes más o menos gruesas.

HUÉSPED: *Marmosa* sp.

LOCALIZACIÓN: Intestino delgado.

LOCALIDAD GEOGRÁFICA: Río Grande, Atenas, Provincia de Alajuela, Costa Rica.

EJEMPLARES: En la colección particular del primer autor, en México, D. F. con el número, 181-22.

Oochoristica bivittata von Janicki, 1904
(Figura 4).

El escólex es aplanado, mide 0,819 - 0,819 mm de ancho a nivel de las ventosas, que son 4, más o menos esféricas, de paredes gruesas y musculosas y que tienen 0,194 - 0,224 mm de longitud y 0,194 - 0,253 mm de anchura.

No hay cuello, ya que la segmentación se observa muy próxima al escólex.

Los proglótidos inmaduros son rectangulares, más anchos que largos; pero su longitud va en aumento progresivamente y de acuerdo con el crecimiento del estróbilo.

Los proglótidos maduros son de de la misma forma y algunos de ellos, situados más o menos a la mitad de la cadena estrobilar, son cuadrangulares. Muy pronto esta forma cambia nuevamente hacia la rectangular, pero ahora con una longitud mayor que la anchura, correspondiendo esta transformación a la pro-

ducción de los proglótidos grávidos.

La cutícula del escólex y de los segmentos es lisa y delgada.

Los anillos maduros miden 0,432 - 0,596 mm de longitud por 0,447 - 0,477 mm de ancho; presentan una prolongación lateral e inferior, precisamente en su unión con el segmento que le sigue.

Los testículos son esferoidales, de consistencia semejante a la que ya hemos indicado en anteriores contribuciones y colocados en posición central e inferior al complejo femenino y hasta la altura inferior también de los lóbulos del ovario; son 34 - 45 por anillo y miden 0,037 - 0,054 mm de largo por 0,028 - 0,037 mm de ancho.

El conducto deferente es enrollado, de posición lateral, superior y dorsal a los conductos excretores; al llegar a la bolsa del cirro se introduce en ella para diferenciarse en el cirro u órgano copulador.

La bolsa del cirro es piriforme, de paredes gruesas y ligeramente musculosas; su porción más estrecha se abre en el poro genital que a su vez desemboca por detrás de la cutícula, en el atrio genital correspondiente, que es irregularmente alterno y de situación lateral y superior. No hemos observado glándula prostática.

El aparato genital femenino es de posición central y ligeramente anterior en el proglótido maduro. Está compuesto por el ovario fuertemente lobulado, cuyas lobulaciones se abren hacia la glándula vitelógena ligeramente lobulada y de forma más o menos esférica.

Los ovocitos del ovario son ovoides, con un pequeño núcleo excéntrico; se encuentran colocados en racimo dentro de las lobulaciones. La glándula vitelógena tiene multitud de conductillos que se arreglan a manera de un ovillo en cuyos espacios claros están colocados los folículos vitelinos, pequeñas células ligeramente esféricas. Estos conductores se unen fuera de la glándula en uno solo que describe un trayecto más o menos sinuoso hasta que se pone en contacto con el oviducto, tubo que se origina de la reunión de todos aquellos de menor calibre y que salen de cada lóbulo del ovario.

El receptáculo seminal se forma a diferentes niveles en cada segmento; está lleno de espermatozoides, diferenciándose así de los lóbulos ováricos entre los que está situado en la mayoría de los anillos observados; se dirige hacia la médula del proglótido, con la estructura de un conducto de paredes delgadas que resurge hacia la zona cuticular transformado, ya que su luz se estrecha y sus paredes se hacen gruesas y musculosas. Así se constituye el conducto vaginal, que corre paralelo al deferente, dorsalmente a los conductos excretores y desemboca en el atrio genital en posición lateral y posterior al poro masculino.

En los proglótidos grávidos, más largos que anchos, se ven numerosos huevecillos en las zonas laterales al complejo genital femenino, invadiendo muchas veces la zona del ovario y aquella lateral que se localiza más allá de los conductos excretores de preferencia en la poral. Como excepción también hay en la antiporal en unos cuantos anillos.

El útero se forma de una manera similar a la que nos hemos referido al hablar del céstodo redescrito anteriormente. No hemos podido verificar el estado

embrionario de los huevecillos.

El atrio genital es irregularmente alterno, de situación anterior en los segmentos, provocando una ligera prominencia en la cutícula; es de sección más o menos circular.

Los conductos excretores son dos, longitudinales, por cada segmento.

HUÉSPED: *Marmosa* sp.

LOCALIZACIÓN: Intestino delgado.

LOCALIDAD GEOGRÁFICA: Río Grande, Atenas, Provincia de Alajuela, Costa Rica.

EJEMPLARES: En la colección particular del primer autor, en México, D. F., con el número 181-23.

Ophiotaenia perspicua La Rue, 1911
(Figuras 5 y 16)

El escólex es ligeramente globuloso y bastante ancho a nivel de las ventosas, en donde mide 0,209 - 0,253 mm; las ventosas son esféricas, de labios gruesos y musculosos; tienen 0,119 - 0,119 mm de longitud y 0,119 - 0,134 mm de anchura; no hay rostro. El cuello es bastante largo.

La cutícula es lisa y en determinados trechos, aunque no de una manera regular, aparece ligeramente ondulada.

Los proglótidos inmaduros son rectangulares; en ellos se distinguen esbozos de órganos genitales masculinos y femeninos; poco a poco se alargan y así se distinguen en primer término los testículos, por lo que estos animales son protándricos.

Los segmentos maduros alcanzan una longitud de 2,161 - 2,578 mm y una anchura de 0,432 - 0,581 mm a nivel de la bolsa del cirro. Los testículos se encuentran distribuidos a lo largo del anillo y en la zona que está entre las glándulas vitelógenas y el tubo uterino; son en número de 100 - 122 por ambos lados y su colocación es muy particular por el hecho de estar a uno y a otro lado de un conducto eferente común y unidos a él por conductillos de menor calibre, adquiriendo el conjunto un aspecto arborescente; los testículos son más o menos esféricos y envueltos por una capa tenue y transparente y miden 0,042 - 0,063 mm de longitud por 0,037 a 0,046 mm de ancho.

El conducto eferente es de paredes delgadas y sencillas; el deferente es grueso, enrollado, se localiza en toda su longitud en la porción media del proglótido, introduciéndose en la bolsa del cirro que es ligeramente piriforme y con 0,298 a 0,581 mm de longitud por 0,224 - 0,238 mm de ancho; la bolsa tiene paredes musculosas, pero no muy gruesas y a través de ellas se observa la glándula prostática, conjunto celular formado por unidades ovoides y agrupadas en plan arborescente en las paredes internas, cubriendo los conductos deferente y eyaculador. El orificio genital masculino se encuentra en el atrio genital en posición lateral y posterior.

El ovario es bilobado; dando al conjunto un aspecto amariposado al unirse, por el oviducto, los dos lóbulos de forma cuadrangular. Los ovocitos son células más o menos ovoides, agrupadas en pequeños racimos, los que están comuni-

cados entre sí por conductillos que se conectan con el oviducto interlobular.

Las glándulas vitelógenas, situadas inmediatamente a continuación de la capa muscular del segmento, se encuentran asimismo entre ésta y los testículos; son pequeños racimos foliculares localizados en el extremo de viteloconductillos transversales que se conectan a un conducto longitudinal de mayor calibre, que cuando alcanza el nivel del ovario pierde alguno de los racimos que se encuentran en mayoría hacia la región testicular. Los conductillos transversales, formando una red muy delicada y pequeña, pasan por debajo del ovario y se reunen en la región del ootipo al conducto medio inter-ovárico.

El útero es un tubo de posición central; se origina asimismo de la región del ootipo, dirigiéndose hacia la porción anterior del proglótido. Es de paredes delgadas; de la rama principal surgen ramificaciones laterales, que en los segmentos maduros aparecen muy pequeñas y en las que se ven los esbozos de los futuros huevecillos; del ootipo surge también la vagina, conducto muy delicado que en un principal se adhiere al tubo uterino hasta la altura del conducto deferente, en donde se dirige hacia el atrio genital, entremezclándose con las circunvoluciones de dicho conducto y diferenciándose después de cierta distancia. Iniciándose como un tubo de paredes delgadas y musculosas se rodea, en todo su trayecto final hasta el poro correspondiente, de un conjunto de células ovoides y alargadas por uno de sus extremos.

Entre los dos lóbulos ováricos se aprecia un tubo con numerosas circunvoluciones, que al dirigirse hacia la porción anterior del segmento, atraviesa una estructura circular, con folículos celulares piriformes, que corresponde a la glándula de Mehlis.

Los ejemplares estudiados no presentaban proglótidos grávidos.

El atrio genital es irregularmente alterno, de posición media en el proglótido y de sección más o menos circular.

Los conductos excretores dividen al segmento en una zona interna, en donde se sitúan todos los órganos, y en dos laterales externas, en donde se aprecia perfectamente la musculatura.

HUÉSPED: *Crotalus cinereus* Le Conte *y Bothrops* sp.

LOCALIZACIÓN: Intestino delgado.

LOCALIDADES GEOGRÁFICAS: Taxquillo, Estado de Hidalgo, República Mexicana y Muelle San Carlos, Provincia Alajuela, República de Costa Rica.

EJEMPLARES: En la colección particular del primer autor con el número 181-24.

DISCUSION

Hemos catalogado a los céstodos de *Sylvilagus*, dentro del género *Paranoplocephala* Lühe, 1910, por lo siguiente:

Proglótidos más anchos que largos y no lineares. Testículos numerosos y antiporales. Poros genitales unilaterales. Glándula vitelógena dorsal en nuestros ejemplares y de situación posterior al ovario. Utero grávido transversal, con numerosas proyecciones. Huevecillos con aparato piriforme. Vagina posterior a la bolsa del cirro y presencia de receptáculo seminal.

RAUSCH en 1952 (13) hace una revisión de las especies del género y precisa el conocimiento de las mismas, en tal forma que podemos considerar este trabajo como básico en la clasificación de estos céstodos. En 1954 (14), indica que existen 12 especies aparentemente válidas hasta esa fecha de las que *P. omphalodes, P. variabilis, P. infrequens, P. neofibrinus* y *P. lemmi,* se presentan en Norte América.

RAUSCH piensa en el tamaño y en la forma del estróbilo como características esenciales en la clasificación de estas especies y es entre ellas *P. infrequens* la más semejante al céstodo colectado por nosotros.

El tamaño y el número de los segmentos es diferente en nuestros ejemplares, en relación con los anotados por RAUSCH y SCHILLER en 1949 (15) en referencia a la redescripción de la especie mencionada en el párrafo anterior.

Estos autores indican (15) que el tamaño del estróbilo no está relacionado a la frecuencia en la especie del huésped; se afirma también el hecho de que las diferencias morfológicas no pueden relacionarse con esta frecuencia; por consiguiente debemos pensar, que si nuestros céstodos alcanzan una longitud aproximada de 21 mm y una anchura más o menos de 7 mm cumple con la primera de estas afirmaciones y es lógico concluir que sea la localización anatómica, la que sí influya en el mayor desarrollo de estos parásitos.

Al describir RAUSCH (13) a *P. lemmi* señala su gran semejanza morfológica con *P. infrequens* y que difieren en el tamaño y en el número de los segmentos; en el tamaño de los huevos y en el de la bolsa del cirro; número de los testículos, su distribución y en el carácter del útero.

Al comparar los caracteres de *P. lemmi* con los de nuestros ejemplares, observamos grandes semejanzas en los datos de medida y en los morfológicos, por lo que podíamos concluir que son los mismos; sin embargo pensamos que, como también son muy parecidos a *P. infrequens* no obstante la localización anatómica de la especie, es este nombre el que tiene prioridad y es así como denominaremos a nuestros céstodos.

Ahora bien, desde los trabajos de DOUTHITT (2), esta especie, ha sido estudiada en roedores por los siguientes investigadores: HARKEMA (9), ERICKSSON (3), RAUSCH (11) y HANSEN (8). Se afirma (15) que esta especie se encuentra muy comunmente en el ciego de su huésped aunque a veces también se le observa en la porción terminal del intestino delgado.

La especie ha sido citada en roedores de diferentes localidades de Alaska y de los Estados Unidos, y la nuestra es la primera información de su presencia en América Central así como también la primera cita con respecto a su localización anatómica.

Los céstodos colectados en *Marmosa,* son del género *Oochoristica* Lühe, 1898 y corresponden a dos especies cuya descripción original se hizo también en ejemplares tomados en *Marmosa murina* L.

Para la determinación específica de los mismos, hemos seguido el criterio establecido ya en nuestras contribuciones anteriores (5, 6, 7), con la circunstancia de que las referencias existentes, en relación a estas especies, son insuficientemente conocidas según afirma DELLA SANTA (1). Es así como podemos deno-

minar *Oochoristica didelphydis* (Rudolphi, 1819) Zschokke, 1904 a los parásitos céstodos de la marmosa costarricense, con escólex bastante ancho y proglótidos maduros y grávidos más anchos que largos.

La morfología y posición de los testículos son caracteres acordes a los indicados en la descripción original, aunque su número es ligeramente mayor en nuestra especie.

Zschokke, citada por JANICKI (10), señala para la bolsa del cirro, una débil musculatura y una posición dorsal a los conductos excretores; nosotros la hemos observado en la misma posición y débilmente desarrollada en relación con la anchura del proglótido, no obstante lo cual se encuentra perfectamente evolucionada y en su interior hay órganos bien constituidos.

Los atrios genitales son irregularmente alternos, pero de situación anterior.

Los órganos genitales femeninos, están colocados en posición ventral y media en el segmento según afirma Zschokke, y en lo que se refiere a cierta estructura de la que se habla en la descripción original y que está situada por delante de la vitelógena, creemos que corresponda al viteloducto que se dirige hacia arriba para unirse al oviducto.

En la revisión de la bibliografía existente, sobre los estudios hechos en el género *Oochoristica* Lühe, 1898; nos hemos encontrado con que algunos autores al describir las especies correspondientes, indican la ausencia o la presencia de receptáculo seminal. Al estudiar la especie que estamos reseñando, vimos este órgano en diferentes niveles del conducto que sale del ootipo en dirección del atrio genital y en *O. bivittata* hemos observado, además, gran cantidad de espermatozoides en su interior.

El examen cuidadoso de los segmentos maduros de estos céstodos nos dirá si la dilatación del conducto que viene del ootipo es o no un receptáculo, la presencia de estructuras semejantes a espermatozoides o la determinación de estas estructuras por cortes histológicos, confirmará el papel de esta dilatación, como nosotros lo hemos verificado en *O. bivittata*. Es lógico pensar que la falta de dilatación del conducto esté influenciada por el habitat del parásito, ya que éste es muy importante y puede influenciar anomalías o teratologías en los demás órganos del proglótido. Una comprobación en esta suposición podría ser la presencia en ambas especies de la dilatación en diferentes niveles de los segmentos estudiados.

Hemos concluído que aquellos céstodos, tomados también en *Marmosa* sp. de la provincia de Alajuela y que presentan proglótidos maduros más anchos que largos y grávidos más largos que anchos, deben denominarse *Oochoristica bivittata* von Janicki, 1904.

Los anillos maduros de forma cuadrangular en la mitad del estróbilo, cambian de forma y se hacen rectangulares conservándose así hasta que se producen los grávidos, caracteres que corresponden a los indicados en la descripción de JANICKI (10); así como también por el hecho de presentarse muy pronto en la cadena de segmentos.

La localización posterior de los testículos es un hecho más por el cual confirmamos la semejanza de nuestros ejemplares con los del autor que los des-

cribió originalmente, no obstante que él no haya podido estudiar su estructura con toda precisión.

No hemos encontrado gran diferencia en la forma de la bolsa del cirro ni en sus relaciones de posición con los conductos excretores y con el deferente. Su estado de desarrollo en los segmentos concuerda con lo indicado por el clasificador de esta especie en 1904 y con la relación que existe en los ejemplares nuestros, con respecto a la anchura máxima del animal.

Coincidimos con la opinión de JANICKI (10), en el sentido de que los órganos genitales femeninos, se conservan en la mayoría de los segmentos, como lo prueba el hecho de que están en los maduros y se ven todavía casi en la totalidad de los grávidos; su posición es determinante como lo mencionamos al hablar de la posición de los testículos y es así como hemos podido precisar estos órganos y diferenciarlos de las cápsulas uterinas que se encuentran en su derredor.

En nuestro primer trabajo (4) sobre Céstodos hicimos la redescripción de *Ophiotaenia perspicua,* y si ahora lo hacemos nuevamente es porque disponemos del escólex, del que carecíamos entonces.

No cabe duda de que los ofiotenidos colectados en *Crotalus* corresponden a la especie mencionada más arriba en lo que se refiere a los caracteres observados en los proglótidos maduros, pero principalmente en el número y disposición de los testículos, en la morfología de los mismos y en su constitución anatómica. Debemos señalar, además, la morfología de la bolsa del cirro y su posición anterior en el segmento. La longitud de la bolsa es en algunas ocasiones equivalente a la anchura del proglótido pero en general es más o menos la tercera parte de esta medida.

La morfología y constitución del ovario es un hecho más que nos hace pensar en la identidad de esta especie, así como también la posición del conducto vaginal.

RESUMEN

Se informa sobre la presencia de *Paranoplocephala infrequens* (Douthitt, 1915) en conductos biliares de *Sylvilagus brasiliensis* de Costa Rica.

Se cita por primera vez a este céstodo dentro de la fauna helmintológica de este país.

Se hace un análisis de los caracteres de esta especie que nos han servido de punto de comparación con aquellos presentados por otros autores.

Se redescriben asimismo *Oochoristica didelphidis* y *O. bivittata,* encontrados en *Marmosa* sp. de Costa Rica y *Ophiotaenia perspicua* La Rue, 1911 de *Crotalis cinereus* de Taxquillo, Hidalgo, México y se cita el mismo céstodo en *Bothrops* sp. de Muelle San Carlos, Provincia de Alajuela, Costa Rica.

SUMMARY

Paranoplocephala infrequens (Douthitt, 1915) is reported, for the first time in Costa Rica, from the bile ducts of *Sylvilagus brasiliensis,* and redescribed. Redescriptions are also given of *Oochoristica didelphidis* and *O. bivittata* (Ru-

dolphi, 1919) Zschokke, 1904, von Janick, 1904, from *Marmosa* sp., from Costa Rica, and *Ophiotaenia perspicua* La Rue, 1911, from *Crotalus cinereus* from Taxquillo, Hidalgo, Mexico and *Bothrops* sp. from Muelle San Carlos, Alajuela, Costa Rica.

BIBLIOGRAFIA

1. DELLA SANTA.
   1956. Revision du gente Oochoristica Lühe (Cestodes). Thèse présentée a la faculté des sciences de l'Université de Neuchatel pour obtenir le grade de Docteur ès Sciences Biologiques. 113 pp., 3 figs. Université de Neuchatel.

2. DOUTHITT, H.
   1915. Studies on the cestode family Anoplocephalidae. *Ill. Biol. Monograph.*, 1: 5-96.

3. ERICKSON, A. B.
   1938. Parasites of some Minnesota Cricetidae and Zapodidae and a host catalogue of helminth parasites of native American mice. *Amer. Midl. Nat.*, 20: 575-589.

4. FLORES-BARROETA, L.
   1953. Céstodos de Vertebrados I. *Ciencia*, 13(1-3): 31-36.

5. FLORES-BARROETA, L., ESPERANZA HIDALGO y R. BRENES
   1958. Céstodos de Vertebrados IV. *Rev. Biol. Trop.*, 6(1): 57-78.

6. FLORES-BARROETA, L., ESPERANZA HIDALGO y R. BRENES
   1958. Céstodos de Vertebrados VI. *Rev. Biol. Trop.*, 6(2): 167-188.

7. FLORES-BARROETA, L., y ESPERANZA HIDALGO.
   1960. Céstodos de Vertebrados VII. *Libro Homenaje al Dr. Eduardo Caballero y Caballero:* 357-376.

8. HANSEN, M. F.
   1947. Three anoplocephalid cestodes from the prairie meadow vole, with description of *Andrya microti* n. sp. *Trans. Amer. Micr. Soc.*, 66(2): 279-282.

9. HARKEMA, R.
   1936. The parasites of some North Carolina rodents. *Ecol. Monograph.*, 6: 151-232.

10. JANICKI, C. VON.
    1906. Studien an Säugetier Cestoden. *Zeitschr. Zool.*, 81: 505-597.

11. RAUSCH, R.
    1946. *Paranoplocephala troeschi*, a new species of cestode from the meadow vole *Microtus pennsylvanicus* Ord. *Trans. Amer. Micr. Soc.*, 65(4): 354-356.

12. RAUSCH, R.
    1952. Helminths from the round-tailed muskrat, *Neofiber alleni nigrescens* Howell, with descriptions of two new species. *J. Parasit.*, 38(5): 151-156.

13. RAUSCH, R.
1952. Studies on the helminth fauna of Alaska XI. Helminth parasites of microtine rodents. Taxonomic considerations. *J. Parasit.*, 38(5): 415-444.

14. RAUSCH, R.
1954. Studies on the helminth fauna of Alaska XXII. *Paranoplocephala wigginsi* n. sp., a cestode from an arctic ground squirrel. *Trans. Amer. Micr. Soc.*, 73(4): 380-383.

15. RAUSCH, R., & E. L. SCHILLER.
1949. Some observations on cestodes of the genus *Paranoplocephala* Lühe, parasitic in North American voles. *Proc. Helm. Soc. Wash.*, 16(1): 23-31.

Paranoplocephala infrequens (Douthitt, 1915)

Fig. 1: Detalle de complejo genital femenino y sus relaciones con la bolsa del cirro y vesículas seminales externa e interna.

Fig. 2: Testículos.

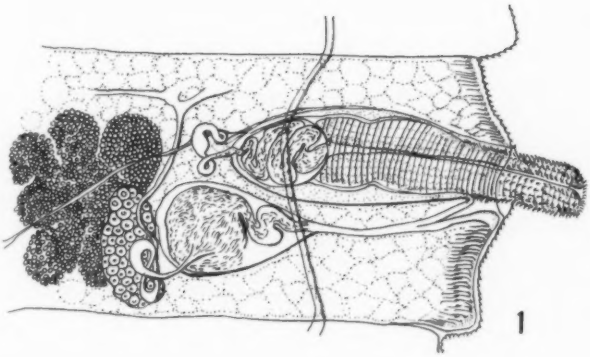
Fig. 3: Huevecillos con aparato piriforme.

Oochoristica bivittata von Janicki, 1904

Fig. 4: Proglótido maduro.

Ophiotaenia perspicua La Rue, 1911.

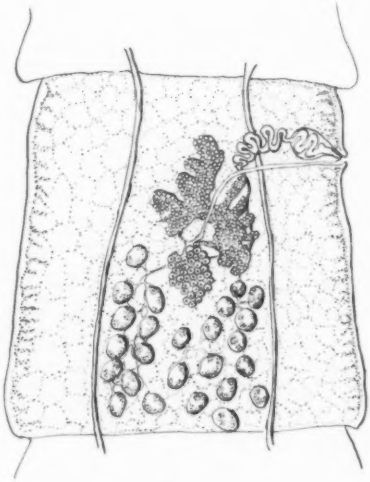
Fig. 5: Detalle de la bolsa del cirro, testículos y glándulas vitelógenas del proglótido maduro. Nótese la vagina, anterior a la bolsa, y rodeada de pequeñas glándulas de forma de pera.



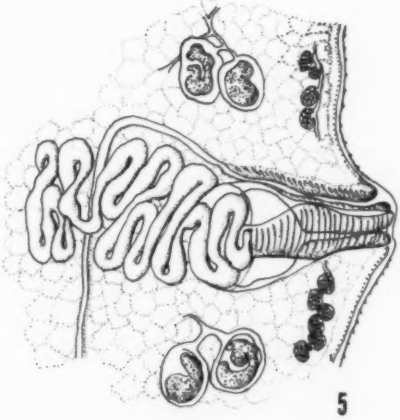
1

2

3



4



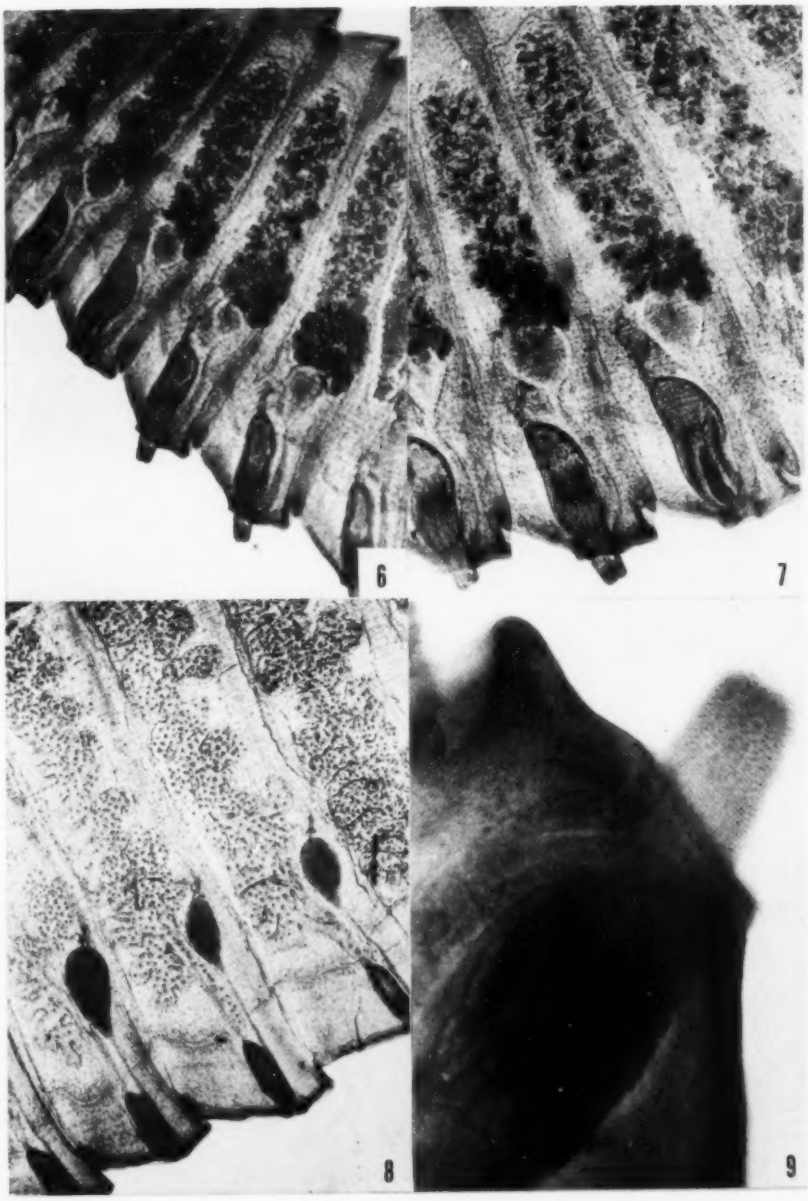
5

Paranoplocephala infrequens (Douthitt, 1915)

Fig. 6 y 7: Microfotografía de proglótidos maduros en donde se nota el útero extendido en la porción media del segmento.

Fig. 8: Microfotografía de proglótidos grávidos, en donde el útero se ve totalmente desarrollado, destacando el receptáculo seminal femenino.

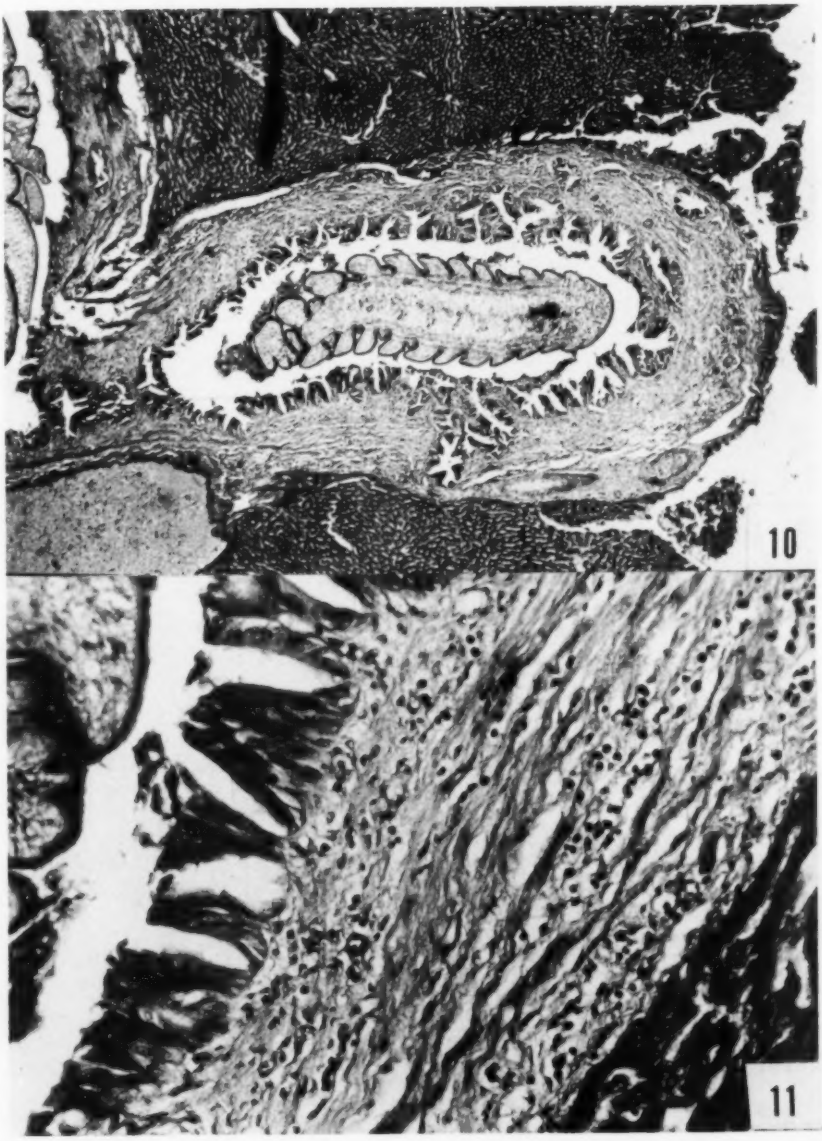
Fig. 9: Detalle del cirro espinoso.


6
7
8
9

Paranoplocephala infrequens (Douthitt, 1915)

Fig. 10: Microfotografía, que muestra al parásito "in situ", en la luz de un conducto biliar de *Sylvilagus* sp. Nótese la intensa proliferación del epitelio del conducto, así como su descamación.

Fig. 11. Fibrosis intensa alrededor del epitelio. Nótese la fuerte infiltración.


10
11

Oochoristica didelphidis (Rudolphi, 1819) Zschokke, 1904

Fig. 12: Escólex.

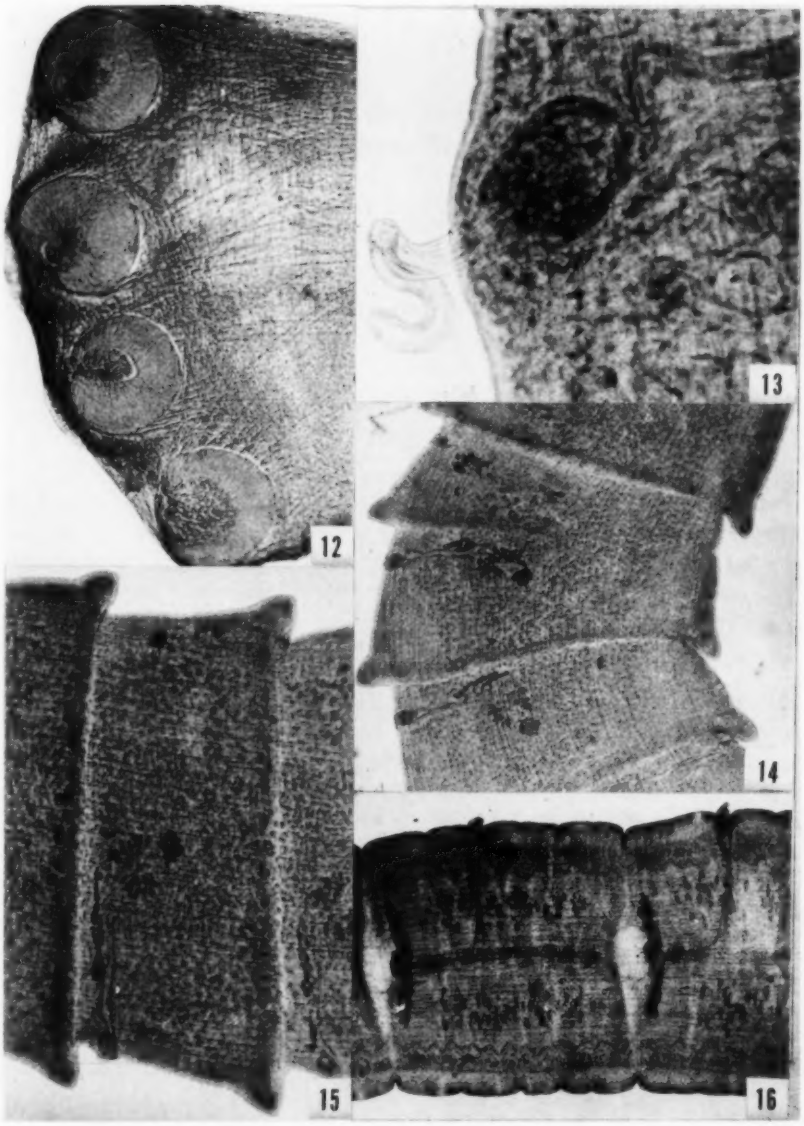
Fig. 13: Detalle de la bolsa del cirro, con el cirro evaginado. Alrededor de la bolsa se notan los huevecillos.

Fig. 14: Porción de la cadena del estróbilo, en donde se nota una anomalía en el proglótido anterior.

Fig. 15: Proglótidos maduros.

Ophiotaenia perspicua La Rue, 1911.

Fig. 16: Microfotografía de una porción de la cadena estrobilar, mostrando la colocación de los testículos y de las glándulas vitelógenas en relación con el tubo uterino central.


12
13
14
15
16

Rev. Biol. Trop., 9(2): 209-214, 1961

Ciliados de Vida Libre de la Ciudad Universitaria, Costa Rica

por

Armando Ruiz*

(Recibido para su publicación el 11 de noviembre de 1961)

Es bien sabido que la fauna protozoológica de Costa Rica es prácticamente ignota. Debido a ello hemos venido estudiando, desde hace unos años, protozoarios de vida libre de diversas regiones del país. Con esta nota queremos hacer una primera contribución al respecto, comenzando con la fauna de ciliados de nuestra propia Ciudad Universitaria.

MATERIAL Y METODOS

Durante los últimos tres años hemos coleccionado muestras de agua de las diversas acequias, caños, estanques y charcos de la Ciudad Universitaria, en frascos de vidrio con tapa de rosca. Las muestras se tomaron tanto de la superficie como del fondo, tratando de recoger la vegetación y los detritos sedimentados. En cada frasco se recogió cerca de 200 a 400 ml de agua. Cada muestra se observó el mismo día y en días consecutivos por espacio de una semana.

Las muestras se observaron siempre en preparaciones directas a fresco, usando el microscopio corriente, el de contraste de fases y a veces el campo oscuro. Para retener el movimiento de los ciliados se empleó una solución de metil-celulosa al 10 por ciento. Para estudiar el núcleo se utilizó una solución de verde de metilo en ácido acético y para estudiar cirros y estructuras semejantes, la solución de Noland.

---

* Departamento de Parasitología, Universidad de Costa Rica.

Para la identificación específica se siguió la monografía de KAHL (2) adoptando el sistema propuesto por CORLISS (1).

RESULTADOS

En la lista que aparece a continuación se detallan únicamente los ciliados que se han podido determinar hasta especie, siendo ellos un total de 66.

CLASE CILIATA

SUBCLASE HOLOTRICHA

ORDEN GYMNOSTOMATIDA

SUBORDEN RHABDOPHORINA

FAMILIA SPATHIDIIDAE

Spathidium spathula O. F. Müller
Homalozoon vermiculare Stokes

FAMILIA DIDINIIDAE

Didinium nasutum O. F. Müller

FAMILIA COLEPIDAE

Coleps hirtus Nitzsch
Coleps hirtus var. *minor* Kahl
Coleps octospinus Noland
Coleps elongatus Ehrenberg

FAMILIA HOLOPHRYIDAE

Holophrya saginata Pénard
Prorodon teres Ehrenberg
Lacrymaria olor O. F. Müller
Lacrymaria pupula O. F. Müller
Enchelys pellucida Eberhard

FAMILIA LOXODIDAE

Loxodes rostrum O. F. Müller
Loxodes magnus Stokes

FAMILIA AMPHILEPTIDAE

Amphileptus claparedei Stein
Lionotus fasciola (Ehrenberg)

FAMILIA TRACHELIIDAE

Trachelius ovum Ehrenberg
Dileptus anser (O. F. Müller)

SUBORDEN CYRTOPHORINA

FAMILIA NASSULIDAE

Nassula ornata Ehrenberg

FAMILIA CHLAMYDODONTIDAE

Chilodonella cucullulus (O. F. Müller)
Chilodonella uncinata Ehrenberg

ORDEN SUCTORIDA

FAMILIA PODOPHRYIDAE

Podophrya fixa O. F. Müller

ORDEN TRICHOSTOMATIDA

FAMILIA COLPODIDAE

Colpoda cucullus O. F. Müller
Colpoda inflata Stokes

ORDEN HYMENOSTOMATIDA

SUBORDEN PENICULINA

FAMILIA PARAMECIIDAE

Paramecium caudatum Ehrenberg
Paramecium multimicronucleatum Powers & Mitchell
Paramecium aurelia Ehrenberg

SUBORDEN PLEURONEMATINA

FAMILIA PLEURONEMATIDAE

Cyclidium glaucoma O. F. Müller
Cyclidium citrullus Cohn
Ctedoctema acantocrypta Stokes

SUBORDEN TETRAHYMENINA

FAMILIA FRONTONIIDAE

Frontonia leucas Ehrenberg
Frontonia depressa (Stokes)
Lembadion bullinum Perty
Urocentrum turbo O. F. Müller
Dexiotrichides centralis (Stokes)

FAMILIA TETRAHYMENIDAE

Tetrahymena piriformis (Ehrenberg)
Colpidium colpoda (Ehrenberg)
Colpidium campylum (Stokes)
Glaucoma frontata (Stokes)

ORDEN PERITRICHIDA

SUBORDEN SESSILINA

FAMILIA VORTICELLIDAE

Vorticella campanulla Ehrenberg
Vorticella similis Stokes
Vorticella convallaria Linné
Carchesium polypinum Linné

FAMILIA EPISTYLIDAE

Epistylis plicatilis Ehrenberg

FAMILIA VAGINICOLIDAE

Vaginicola crystallina Ehrenberg

SUBCLASE SPIROTRICHA

ORDEN HETEROTRICHIDA

FAMILIA BURSARIIDAE

Bursaria truncatella O. F. Müller

FAMILIA METOPIDAE

Metopus es O. F. Müller

FAMILIA SPIROSTOMIDAE

Spirostomum ambiguum O. F. Müller
Spirostomum loxodes Stokes
Spirostomum teres Claparede et Lachmann
Blepharisma lateritium (Ehrenberg)
Blepharisma undulans Stein

FAMILIA CONDYLOSTOMIDAE

Condylostoma vorticella (Ehrenberg)

FAMILIA STENTORIDAE

Stentor coeruleus
Stentor multiformis (O. F. Müller)

ORDEN OLIGOTRICHIDA

FAMILIA HALTERIIDAE

Halteria grandinella (O. F. Müller)

ORDEN HYPOTRICHIDA

FAMILIA OXYTRICHIDAE

Oxytricha fallax Stein
Oxytricha setigera Stokes
Uroleptus linnetis Stokes
Uroleptus dispar Stokes
Urostyla grandis Ehrenberg
Stylonychia mytilus Ehrenberg
Stylonychia pustulata Ehrenberg

FAMILIA EUPLOTIDAE

Euplotes patella
Euplotes eurystomus

FAMILIA ASPIDISCIDAE

Aspidisca lynceus Ehrenberg

Las especies de ciliados mencionados en la lista anterior son ampliamente conocidos en lugares distantes del nuestro, lo que viene a confirmar el carácter cosmopolita de la mayoría de los ciliados.

RESUMEN

Se da una lista de los ciliados que se han podido identificar en muestras de agua coleccionadas de acequias, caños, estanques y charcos de la Ciudad Universitaria de Costa Rica. Con ello se pretende contribuir al conocimiento de la fauna protozoológica del país, la que es hasta el momento prácticamente desconocida.

SUMMARY

A list is given of the ciliates determined to species, collected in the streams, ditches, pools and puddles of the campus of the University of Costa Rica.

BIBLIOGRAFIA

1. CORLISS, J. O.
1959. An illustrated key to the higher groups of the Ciliated protozoa, with definitions of terms. *J. Protozool.*, 6: 265-281.

2. KAHL, A.
1930-35. Wiempertiere oder Ciliata (Infusoria), in Dahl, F.,*Die Tierwelt Deutschlands,* Fischer, Jena, 890 pp.

Rev. Biol. Trop., 9(2): 215-218, 1961

Eimerias de los bovinos de Costa Rica

II. Incidencia en terneros

por

Armando Ruíz* y Fernando Ortiz**

(Recibido para su publicación el 11 de noviembre de 1961)

Con esta segunda nota queremos dar a conocer los resultados obtenidos del examen de la materia fecal de cien terneros en lo que se refiere a coccidios del género *Eimeria*. Con ello queremos contribuir al conocimiento de las especies de eimerias que parasitan a nuestro ganado vacuno y su posible incidencia.

MATERIAL Y METODOS

Para el presente estudio se coleccionó la materia fecal de cien terneros, que no excedían a los 8 meses de edad, de cuatro regiones del país, distribuidas de la siguiente manera: 71 animales de la región de San Carlos, 16 de Orotina, 7 de Puriscal y 6 de San Isidro de Coronado. Las heces se recogieron del recto de los animales y en frascos de vidrio se transportaron al laboratorio, donde se conservaron en refrigeración hasta su procesamiento.

Todas las muestras de heces se trataron según la técnica empleada por LEE (5) con el objeto de purificar y concentrar los ooquistes. Las observaciones de las preparaciones microscópicas se hicieron con objetivos de bajo poder, empleando el objetivo de inmersión en los casos positivos par estudiar los detalles de los ooquistes y tomar las mediciones respectivas con ayuda de un micrómetro ocular.

Para la identificación específica de los ooquistes hemos seguido el sistema propuesto por CHRISTENSEN (3) y por LEE y ARMOUR (6).

RESULTADOS

El examen de la materia fecal de los cien animales estudiados dio un total de 49 terneros parasitados, de los cuales 11 presentaron una infección mixta,

* Departamento de Parasitología, Universidad de Costa Rica.
** Cátedra de Veterinaria Aplicada, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica.

es decir, parasitados por dos especies de eimerias.

Las eimerias halladas y su incidencia las indicamos en el cuadro 1.

CUADRO 1

Incidencia de eimerias en los terneros examinados

Coccidios	% de positivos en cien animales examinados
Eimeria bovis	31
Eimeria alabamensis	20
Eimeria ellipsoidalis	4
Eimeria subsphaerica	3
Eimeria zürni	2
Eimeria auburnensis	1

Los ooquistes de *E. bovis, E. ellipsoidalis* y *E. zürni* presentaron las características y dimensiones ya mencionadas en un trabajo anterior (7).

Los ooquistes de *E. alabamensis* se reconocieron fácilmente por su notoria variación en la forma, la que se aproxima a la piriforme. Presentan una membrana homogénea, delgada, transparente, pero con el objetivo de inmersión aparece con un tinte azul púrpura claro. No presentan micropilo. Las dimensiones que encontramos varían entre 14,6μ y 27,2μ de largo por 11,4μ y 19,7μ en su porción más ancha.

Los ooquistes de *E. subsphaerica* se reconocieron por su forma subesférica, sus pequeñas dimensiones (de 11 a 13μ en su diámetro mayor) y por tener una membrana fina, transparente.

Las formas que consideramos *E. auburnensis* presentaron una forma ovoidal, alargada, y un micropilo en su extremo ahusado; con una membrana homogénea pardusca. Las dimensiones de los escasos ooquistes observados giraron alrededor de 45,5μ de largo por 24,2μ de ancho.

DISCUSION

Hasta el presente es muy poco lo que se conoce sobre las eimerias parásitas de nuestros bovinos. La primer referencia al respecto indica escuetamente la presencia de *E. zürni* y *E. ellipsoidalis* (2). BRICEÑO (1) en 1944 estudia 42 terneros de la región de Turrialba, refiriendo la presencia de *E. zürni, E. smithi* (= *E. bovis)* y *Eimeria ellipsoidalis*. Se puede deducir del trabajo que la incidencia de las dos primeras especies es mayor del 50 por ciento alcanzando el 80 por ciento la última especie mencionada. En gran número de animales se encontró los tres coccidios mencionados concomitantemente.

Posteriormente nosotros (7) señalamos en animales adultos aparentemente sanos las mismas especies más *E. cylindrica*. En nuestra encuesta actual se man-

tiene como coccidio predominante la *E. bovis*, que produce grandes pérdidas en la industria ganadera. De nuestras anteriores y presentes observaciones pareciera deducirse que este coccidio está ampliamente distribuido en nuestro territorio.

De las tres especies de eimerias que se señalan por primera vez en nuestro país, se encuentra la *E. alabamensis* con bastante frecuencia en los lugares estudiados. Este coccidio de ciclo endógeno intranuclear (4), produce afecciones benignas en los animales observados y solamente en infecciones mixtas, sobre todo con *Eimeria bovis*, se presentaron cuadros agudos. Las otras especies que se señalan por primera vez son la *E. subsphaerica* y *E. auburnensis*, con 3 y 1 por ciento de incidencia respectivamente.

Concluyendo podemos decir que las especies de *Eimeria* de nuestros bovinos, hasta ahora conocidas, son las siguientes de acuerdo con su frecuencia: *E. bovis*, *E. alabamensis*, *E. ellipsoidalis*, *E. subsphaerica*, *E. zürni*, *E. cylindrica* (7), y *E. auburnensis*.

RESUMEN

Se examinó la materia fecal de cien terneros de cuatro regiones del país con el objeto de buscar ooquistes de *Eimeria*. Se encontraron 49 terneros parasitados, de los cuales 11 presentaron infección mixta. Las eimerias halladas y su incidencia son las siguientes: *E. bovis*, 31 por ciento; *E. alabamensis*, 20 por ciento; *E. ellipsoidalis*, 4 por ciento; *E. subsphaerica*, 3 por ciento; *E. zürni*, 2 por ciento y *E. auburnensis*, 1 por ciento. Se señala por primera vez en nuestro territorio a *E. alabamensis*, *E. subsphaerica* y *E. auburnensis*.

SUMMARY

The fecal matter of one hundred calves of four different regions of the country was examined for the presence of *Eimeria* oocysts. Forty nine of the calves were found to be parasitized, among which eleven presented a mixed infection.

The species found and their incidence is as follows: *E. bovis*, 31 per cent; *E. alabamensis*, 20 per cent; *E. ellipsoidalis*, 4 per cent; *E. subsphaerica*, 3 per cent; *E. zürni*, 2 per cent and *E. auburnensis*, 1 per cent.

E. alabamensis, *E. subsphaerica* and *E. auburnensis* are recorded for the first time in Costa Rica.

BIBLIOGRAFIA

1. BRICEÑO, A.
   1940. *Estudio de los parásitos internos más corrientes en los terneros de la región de Turrialba y su tratamiento.* Tesis Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica, 79 pp.

2. CHAVARRÍA, A. C.
   1940. Parásitos y enfermedades parasitarias del ganado vacuno en Costa Rica. *Rev. Centro Nac. Agric.*, 5: 59-72.

3. CHRISTENSEN, J. F.
1941. The oocysts of coccidia from domestic cattle in Alabama (U.S.A.) with description of two new species. *J. Parasitol.*, 27: 203-220.

4. DAVIS, L. R., G. W. BOWMAN & D. C. BOUGHTON.
1957. The endogenous development of *Eimeria alabamensis* Christensen, 1941, an intranuclear coccidium of the cattle. *J. Protozool.*, 4: 219-225.

5. LEE, R. P.
1954. The occurrence of the coccidian *Eimeria bukidnonensis* Tubangui, 1931, in Nigeria cattle. *J. Parasitol.*, 40: 464-466.

6. LEE, R. P. & J. ARMOUR.
1959. The coccidia oocysts of Nigeria cattle. *Brit. Vet. Jour.*, 115: 6-17.

7. RUÍZ, A.
1959. Eimerias de los bovinos de Costa Rica. I. Incidencia en animales adultos y sanos. *Rev. Biol. Trop.*, 7: 221-224.

Rev. Biol. Trop., 9(2): 219-225, 1961

Notas sobre actividades nocturnas y estados de reproducción de algunos Quirópteros de Costa Rica

por

J. R. Tamsitt* y Darío Valdivieso*

(Recibido para su publicación el 7 de noviembre de 1961)

La fauna quiróptera de la América Central se conoce generalmente desde un punto de vista taxonómico y geográfico, pero hasta el presente no se ha hecho ningún esfuerzo para investigar el efecto de factores ambientales sobre las actividades nocturnas de los murciélagos tropicales. El presente informe trata de un breve estudio hecho sobre las normas de tales actividades nocturnas y condiciones de reproducción de dichos quirópteros desde julio 9 hasta agosto 7, 1961, en San José, Costa Rica.

San José (09° 56'02"77 N, 84° 04'49"65 W) está situada en la Meseta Central de Costa Rica y está rodeada por ramales de la cordillera volcánica principal del país. La zona es sub-tropical y el clima se caracteriza por tener épocas alternas de sequía y de lluvia, aproximadamente de seis meses de duración cada una. El promedio de la precipitación anual es de 2.016,5 mm, distribuido principalmente desde Mayo hasta Octubre, meses en que se ve el mayor número de días nublados (1). El promedio de lluvia durante el mes de julio fue de 230,0 mm y el de agosto 278,0 mm. Aunque durante el día llovío frecuentemente, sólo en una noche, julio 9, se registraron trazas de precipitación. El promedio de temperatura diaria para julio y agosto de 1961 varió entre 18,2° y 21,6° C y la humedad relativa entre 73,3 y 83,6 por ciento. La velocidad del viento fue siempre mínima durante las noches de colecta.

Los doctores Andrew Starrett y Jorge Hernández ayudaron en la colección e identificación de los ejemplares; su colaboración nos fue de gran valor. Fondos para el sostenimiento en San José fueron suministrados por la Asociación de Estados Americanos para asistir al Instituto de Biología Tropical NSF en San José. Los datos meteorológicos nos fueron concedidos por el Instituto Meteorológico de Costa Rica en San José.

---

* Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

HABITACION

El lugar o habitación de nuestros estudios se encontraba localizado en los predios de la Universidad de Costa Rica. El sitio escogido para colocar las redes, un bosque abierto rodeado al norte y al este por una enramada estrecha de matas de café y bananas; pastos al oeste y al sur. Arboles grandes, *Erythrina poeppigiana,* bien espaciados, de una altura hasta de 20 metros constituían el dosel del bosque. La vegetación baja se componía de árboles más pequeños *(Solanum* sp.) de cinco a 10 metros de altura y árboles de pomarrosa *(Syzigium jambos)* distribuidos tanto en el bosque como en la enramada.

METODOS

No hubo tiempo suficiente para observar constantemente la actividad de los murciélagos, pero se hicieron 10 observaciones durante los 30 días. Dos redes japonesas de nylon, de 10 metros cada una, se instalaron cada tres o cuatro noches en un lugar fijo en el bosque. Se colocaron en una dirección norte-sur en ángulos rectos al paso del vuelo, entre el pasto y la enramada. Como obscurecía entre las 6:15 y las 6:30 pm (tiempo de Costa Rica) y los murciélagos aparecían entre las 5:55 y las 6:30 pm, las redes se pusieron en su lugar a las 5:30 pm. Se observaron cada 15 minutos hasta las 10:00 pm y los murciélagos colectados se mantuvieron vivos hasta el siguiente día cuando se hicieron apuntes acerca de su condición reproductora y de su idenificación. Para determinar el estado de reproducción se usó el examen externo. El criterio usado para decidir la condición sexual de las hembras se basó en el tamaño y la apariencia de las tetas, lactación y signos de preñez. El indicador morfológico de tal condición en el macho fue la posición escrotal de los testículos. Los ejemplares se encuentran en el Museo de Los Angeles County, Los Angeles, California.

RESULTADOS

Durante los 10 días en que se hicieron las observaciones, se colectaron 85 ejemplares pertenecientes a nueve especies. El Cuadro 1 resume la colecta diaria de acuerdo con las especies, número de individuos y los datos meteorológicos pertinentes. La comparación del número de individuos colectados con la precipitación y la humedad relativa no dio como resultado correlación alguna entre ellos, pero sí parece que existe una relación entre el tamaño de la colecta y la cantidad de luz lunar nocturna. Sesenta y cuatro (75,3 por ciento) murciélagos fueron cogidos en seis noches sin luna o nubladas. El 27 de julio se observó luna llena y los días 16, 24 y 26 de julio hubo pocas nubes y brillo lunar de diversos grados. Pocos murciélagos (17 ó 20,0 por ciento) se cogieron durante estas fechas. El 2 de agosto no hubo luna, pero sólo unos pocos murciélagos (4 ó 4,7 por ciento) fueron atrapados. Durante esta noche la luz de las clases nocturnas en los edificios cercanos, aparentemente afectó la colecta.

Murciélagos de la familia Phyllostomidae eran voladores comunes en el

bosque y fueron atrapados más frecuentemente que los murciélagos de la familia Vespertilionidae, voladores de mayores alturas. De los 85 ejemplares colectados, 59 (69,4 por ciento) eran frugívoros, 21 (24,7 por ciento) consumidores de flores o de néctar y cinco (5,9 por ciento) insectívoros. El Cuadro 1 compara la frecuencia de las nueve especies atrapadas. Tres especies dominaron la colecta y fueron atrapadas durante la mayoría de las noches. El murciélago más grande, *Artibeus jamaicensis,* fue el más abundante, evidentemente por alimentarse de las frutas de los árboles adyacentes en tal área. Algunos individuos de esta especie entraron a las redes con frutas de pomarrosa en la boca en dos ocasiones. Una de las frutas, de 34,8 mm de diámetro, estaba mordida visiblemente en una de sus bases. *Sturnira lilium,* otro frugívoro, y *Glossophaga soricina,* un consumidor de néctar, fueron casi igualmente abundantes. Otras especies atrapadas fueron escasas. Los consumidores de flores y frutas incluían también *Lichonycteris obscura* y *Phyllostomus discolor.* Cuando se atrapó el último, aún levaba pólen en la cara. El frugívoro, *Vampyrops vittatus,* y tres insectívoros, *Chilonycteris parnelli, Eptesicus fuscus* y *E. chiriquinus,* fueron también atrapados.

Con la excepción de dos sub-adultos de la especie *Artibeus jamaicensis,* la colecta consistió en 32 machos adultos y 51 hembras adultas también, o sea una relación de sexo de 39 por ciento machos a 61 por ciento hembras. La condición reproductora tanto de los machos como de las hembras se sumariza en el Cuadro 2. Una condición reproductora desarrollada se encontró en 45 o 55,4 por ciento de los 83 murciélagos adultos. Diez y nueve (37,3 por ciento) de las hembras y 27 (84,4 por ciento) de los machos se encontraron en esta categoría. La mayoría de los machos de las tres especies más frecuentemente atrapadas *(Sturnira lilium, Glossophaga soricina* y *Artibeus jamaicensis)* tenían los testículos en posición escrotal, mientras que la condición de las hembras era mucha más variable. Las 13 hembras de *Glossophaga soricina,* no estaban ni lactando ni preñadas; en el mismo estado se encontraron nueve de las 11 hembras de *Sturnira lilium.* Sin embargo 17 ó 78,6 por ciento de las hembras de *Artibeus jamaicensis* se encontraban en uno de estos dos estados, de lactancia o preñez.

Ninguno de los murciélagos insectívoros se encontraron en estado reproductor, pero muestras de estas especies fueron pocas y por tanto no se obtuvieron conclusiones.

DISCUSION

La relación de la norma de actividad con los factores ambientales reguladores, es un aspecto que ha sido por largo tiempo descuidado en el estudio de los quirópteros. Los ritmos de actividad de muchas especies muestran una correlación definida con el ciclo día-noche, y las especies nocturnas tales como los murciélagos, empiezan sus actividades a una intensidad de luz particular (TWENTE, 4; VENABLES, 5). Aunque respuestas tardías pospondrían el ritmo de actividad normal de alimentación nocturna, es discutible que luz continua de una intensidad mayor a la normal restringe completamente la actividad. Aunque nues-

CUADRO 1

Colecta de murciélagos durante julio y agosto 1961 en San José, Costa Rica, y datos meteorológicos correspondientes

Especies	Número	julio 9	15	16	19	24	25	26	30	agosto 2	7
Sturnira lilium	17	4	4	1	1		1	1	1	3	2
Glossophaga soricina	20	9	5				1		1	1	2
Lichonycteris obscura	1	1									
Phyllostomus discolor	1						1				
Vampyrops vittatus	1	1									
Artibeus jamaicensis	41	14	2		7	1	7		7		3
Chilonycteris parnelli	1						1				
Eptesicus fuscus	2			1			1				
Eptesicus chiriquinus	1						1				
Total	85	29	11	2	8	1	13	1	9	4	7
Luz de Luna		—	—	++	+	+++	—	+++	+	—	—
Precipitación nocturna (6:00-10:00 p. m.)		+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Precipitación diaria en mm.		10.1	1.9	4.6	—	4.0	—	5.2	5.6	0.5	—
Promedio de temperatura diaria en grados centígrados		20.8	19.6	21.4	19.8	20.6	21.6	18.2	20.2	20.2	20.2
Porcentaje de la humedad relativa (4:00-8:00 p. m.)		96.0	82.3	91.7	83.3	73.3	79.0	93.6	80.6	79.3	80.5

CUADRO 2

Estado reproductor de murciélagos de San José, Costa Rica

Especies	No. de Machos	No. de Hembras	Machos con Testículos Escrotales		Machos con Testículos Inguinales		Hembras Lactantes o Preñadas		Hembras no Lactantes o no Preñadas	
			No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Sturnira lilium	6	11	5	83.3	1	16.7	2	18.2	9	81.8
Glossophaga soricina	7	13	5	71.3	2	28.7	—	—	13	100.0
Lichonycteris obscura	1	0	—	—	1	100.0	—	—	—	—
Phyllostomus discolor	0	1	—	—	—	—	—	—	1	100.0
Vampyrops vittatus	0	1	—	—	—	—	—	—	1	100.0
Artibeus jamaicensis	18	21	17	92.3	1	7.7	17	78.6	4	21.4
Chilonycteris parnelli	0	1	—	—	—	—	—	—	1	100.0
Eptesicus fuscus	0	2	—	—	—	—	—	—	2	100.0
Eptesicus chiriquinus	0	1	—	—	—	—	—	—	1	100.0
Total	32	51	27	84.4	5	15.6	19	37.3	32	62.7

tros datos son limitados (Cuadro 1), en los murciélagos de Costa Rica, la actividad nocturna en noches con mucha luz es considerablemente menor que la de noches en las cuales la intensidad de la luz es baja. Indudablemente, los períodos de actividad coinciden con el período de obscuridad, y esta relación se mantiene por el ritmo diario de sensibilidad a la luz (DE COURSEY, 2). Así, en los murciélagos tropicales, la humedad y la temperatura no parecen tener efecto en la modificación de su actividad nocturna, mientras que la luz parece ser un definitivo y específico agente regulador.

En las especies que habitan latitudes más bajas, en donde el período estacional es menos riguroso, se espera que las estaciones reproductivas, se rijan por la lluvia y estén relacionadas con las fuentes alimenticias de plantas e insectos, en vez de estar regidas por la duración del día (MILLER, 3). Tales especies pueden mostrar una reproducción continua debido a que la coordinación de los ciclos individuales podría ser diferente, dando como resultado la carencia de un ciclo de reproducción común o unificado. En nuestro trabajo, es evidente que individuos de ambos sexos de una misma especie pueden colectarse en diferentes etapas de reproducción en la misma época del año (Cuadro 2). De las tres especies para las cuales se obtuvieron muestras adecuadas, los machos mostraron tanto una condición regresiva como activa. La misma variación existió en las hembras de sólo dos de las especies(*Sturnira lilium* y *Artibeus jamaicensis*). Las hembras pertenecientes a la especie *Glossophaga soricina* no mostraron ninguna actividad reproductora discernible. Es probable que cada especie tenga una tendencia cíclica innata y nuestros datos indican que puede haber una carencia en la sincronización de ciclos dentro de poblaciones de varias especies de murciélagos en un tiempo dado.

La razón de la proporción tan alta de hembras observada, nos es desconocida. Posiblemente las poblaciones consistieron de un mayor número de hembras que de machos, pero también es posible que la diferencia se deba a que las hembras sean mucho más activas que los machos.

RESUMEN

Se hizo un breve estudio acerca de la actividad nocturna y de la condición reproductora de los quirópteros en San José, Costa Rica, durante los meses de julio y agosto, 1961. Ochenta y cinco ejemplares de nueve especies se colectaron en 10 sesiones de observación. La colecta consistió de 32 machos adultos y 51 hembras adultas también y se encontraron en una condición sexual el 55,4 por ciento de los 83 adultos. Tanto los machos como las hembras de una sola especie mostraron tal condición activa y regresiva; tales datos indican que existía una carencia de sincronización de los ciclos dentro de las poblaciones de por lo menos tres de las nueve especies colectadas (*Sturnira lilium, Glossophaga soricina* y *Artibeus jamaicensis*). La luz lunar y no la humedad ni la temperatura, fue el factor regulador específico de la actividad nocturna. Sesenta y cuatro o 75,3 por ciento de los murciélagos se atraparon en noches nubladas o sin luna.

SUMMARY

A brief study of chiropteran nocturnal activity and reproductive condition was made at San José, Costa Rica, in July and August, 1961. Eighty-five specimens of nine species were collected on 10 netting nights. The catch consisted of 32 adult males and 51 adult females, and a breeding condition was found in 55.4 per cent of 83 adults. Both males and females of a species showed an active and regressed condition, and data indicate there was a lack of synchronization of cycles within populations of three species *(Sturnira lilium, Glossophaga soricina* and *Artibeus jamaicensis)*. Moonlight rather than temperature or humidity was effective in reducing nocturnal activity. Sixty-four or 75.3 per cent of the bats were taken on moonless or overcast nights.

LITERATURA CITADA

1. AMADOR, TULIA Q.
   1954. *Geografía de Costa Rica.* Instituto Geográfico de Costa Rica, San José, C. R. 188 pp.

2. DE COURSEY, PATRICIA J.
   1960. Phase control of activity in a rodent. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology,* 25: 49-54.

3. MILLER, H.
   1959. Reproductive cycles in an equatorial sparrow. *Proc. Nat. Acad. Sci.,* 45: 1095-1100.

4. TWENTE, J. W., JR.
   1955. Some aspects of habitat selection and other behavior of cavern dwelling bats. *Ecol.,* 36: 706-732.

5. VENABLES, L. S.
   1953. Observations at a pipistrelle bat roost. *J. An. Ecol.,* 12: 19-26.

Rev. Biol. Trop., 9(2): 227-231, 1961

Contribución al estudio del género Phytomonas Donovan en Costa Rica

III. Phytomonas davidi (Lafont, 1909) Donovan, 1909

por

Armando Ruiz*

(Recibido para su publicación el 29 de noviembre de 1961)

Con la presente nota queremos continuar con nuestras observaciones sobre fitomonas del país, indicando ahora la presencia de *Ph. davidi* en dos euforbias, *Euphorbia hirta L.* y *E. brasiliensis* Lam.

MATERIAL Y METODOS

Se examinaron 116 ejemplares de *Euphorbia hirta* coleccionados en la región de San Isidro de Coronado. Las plantas se trasladaron enteras al laboratorio donde se procedió inmediatamente a montar el látex de diferentes partes de la planta entre lámina y laminilla, haciendo luego la observación microscópica correspondiente. De los ejemplares parasitados se hicieron preparaciones fijas que se tiñeron con Giemsa y con hematoxilina férrica según Heidenhain, previa fijación en sublimado alcohólico.

Las dimensiones de las fitomonas se tomaron con micrómetro ocular.

RESULTADOS

De los 116 ejemplares de *E. hirta* examinados, se encontró 50 parasitados por *Ph. davidi*, o sea un 43 por ciento. La intensidad del parasitismo varía mucho, desde los ejemplares con escasos flagelados en su látex hasta ejemplares con parasitismo masivo. La infección puede ser general o estar localizada en una sola rama, razón por la cual se debe examinar diversos puntos de la hierba antes de darla por negativa. El látex de las ramas parasitadas muestra un aspecto acuoso y pocos gránulos de almidón.

* Departamento de Parasitología, Universidad de Costa Rica.

Los flagelados muestran en la mayoría de los casos un movimiento lento, aunque éste puede ser a veces bastante activo. A fresco los flagelados muestran un cuerpo hialino, en el que no se aprecia mayor detalle, a no ser las torsiones del cuerpo características de la especie. En las formas con movimientos lentos se pueden observar los flagelos.

En preparaciones teñidas con Giemsa el flagelado presenta un citoplasma teñido de celeste pálido. El blefaroplasto se observa redondo o ligeramente ovalado, teñido de violeta oscuro, y su tamaño oscila alrededor de 0,5μ. El núcleo aparece compacto, teñido de rojo púrpura, ocupa todo el ancho del cuerpo del flagelado y presenta una forma alargada. Se observan los flagelados con una, dos, tres y cuatro torsiones en el cuerpo, siendo los más frecuentes aquellos que tienen una o dos torsiones. El extremo posterior es muy fino, a veces tanto que da la impresión de ser un flagelo. El flagelo se aprecia bien y varía notablemente en longitud; se encuentran algunas formas que carecen de él. Existen numerosas formas en diversos estados de división. También se observan de vez en cuando formas leishmanioides.

En preparaciones teñidas con hematoxilina de Heindenhain los flagelados muestran más o menos las mismas características ya mencionadas. El núcleo difiere en cuanto que se presenta más arredondado, con una membrana nuclear nítida y un cariosoma central, algo voluminoso y compacto, teñido intensamente de negro.

Las dimensiones del flagelado se indican en el cuadro 1.

CUADRO 1

Dimensiones en micras de cien ejemplares de Phytomonas davidi

	Mínimo	Máximo	Promedio
Longitud del cuerpo	10,6	40,5	22,7
Ancho del cuerpo	0,7	2,6	1,7
Distancia del extremo anterior al blefaroplasto	0,6	2,0	1,3
Distancia del blefaroplasto al núcleo	0,6	4,0	1,6
Núcleo	0,6	2,7	1,6
Distancia del núcleo al extremo posterior	6,7	32,0	17,5
Longitud del flagelo	2,7	20,0	11,3

Hemos tratado de cultivar *Ph. davidi* en muy diversos medios, obteniendo siempre resultados negativos.

COMENTARIOS

Phytomonas davidi es un tripanosomátido de amplia distribución geográfica, habiendo sido hallado parasitando numerosísimas euforbiáceas (1, 5, 6, 9, 11, 16). Su presencia ha sido referida en países circunvecinos al nuestro (15), y en Costa Rica ha sido observada anteriormente por PÁEZ (12) durante los años 1946 y 1947, quien la encontró en la ciudad de Limón y zonas circunvecinas, parasitando *E. pilulifera* (=*E. hirta*) y *E. thymifolia*. PÁEZ indica que el 60 por ciento de las plantas examinadas albergan los flagelados, siendo ésta una incidencia mayor a la que nosotros observamos. Este hecho se podría explicar tal vez de acuerdo con las condiciones climáticas ya que la zona de Limón es baja y cálida y la de San Isidro de Coronado es alta (1383 m sobre el nivel del mar) y fría, lo que podría retardar el ciclo evolutivo del tripanosomátido.

Flagelados con las características de *Ph. davidi* hemos observado en un ejemplar de *E. brasiliensis* de la región de Batáan (Provincia de Limón). Parásitos semejantes han sido encontrados en la misma planta en Brasil (14).

Las plantas parasitadas de *E. hirta* no muestran en su aspecto externo señales del parasitismo. Como ya lo habíamos indicado en un trabajo precedente (13), el aspecto marchito o raquítico de una planta no sirve de criterio para pensar en el parasitismo por fitomonas, puesto que muchas veces plantas con tal aspecto no presentan flagelados en su látex. Ahora bien, el látex parasitado muestra alteraciones según el número de flagelados presentes, tornándose totalmente acuoso y carente de gránulos de almidón cuando hay parasitismo intenso.

Numerosos son los intentos que hemos realizado para cultivar *Ph. davidi* en diversos medios aptos para otros tripanosomátidos sin buen éxito; lo mismo nos ha sucedido con *Ph. elmassiani*. De una revisión de la literatura se desprende que han sido numerosos los autores que han intentado el cultivo de estos flagelados (2, 3, 5, 6, 7). Los resultados obtenidos han sido desalentadores puesto que a lo único que se ha llegado es a mantenerlos vivos en el medio primario, generalmente con escasa reproducción, no lográndose los subcultivos. Unicamente existen en la literatura dos casos en que se ha mantenido el flagelado en cultivo por largo tiempo: el primero es *Ph. euphorbiae* (Nieschulz) que NIESCHULZ (8) pudo mantener en placas de agar sangre, habiendo sido aislada esta cepa por FRANCHINI (4) en agar sangre a partir del látex de un ejemplar de *E. cereiformis*. La cepa de *Ph. euphorbiae* hace tiempo que se perdió y no se ha aislado de nuevo ni tampoco existe en la literatura dato alguno de que haya sido observada nuevamente en la planta. El otro es el caso de la llamada *Strygomonas oncopelti*, aislada según NOGUCHI y TILDEN (10) de *Asclepias syriaca* y *A. nivea*, así como también de *Oncopeltus fasciatus* y *Lygaeus kalmii* presuntos insectos trasmisores del tripanosomátido. Una cepa de la tal *S. oncopelti* que se mantiene en la actualidad, sin tener noticia si procede del insecto o de la planta, se caracteriza por la facilidad con que crece en los diversos medios de cultivo, aún en medios muy simples. Esta característica y el hecho de que morfológicamente difiera bastante de las típicas fitomonas, nos hace pensar que este flagelado no se relaciona con las verdaderas fitomonas. Por lo

tanto podemos decir que las fitomonas no se han podido mantener en cultivos al igual que otros tripanosomátidos.

RESUMEN

Se informa el hallazgo de *Phytomonas davidi* (Lafont 1909) Donovan 1909 en *Euphorbia hirta* L. recogida de la región de San Isidro de Coronado. De las 116 plantas examinadas se encontró 50 positivas, o sea el 43 por ciento albergaban el flagelado. Las plantas no mostraron signo alguno patológico. Se menciona también la existencia del mismo flagelado en la zona de Limón en *E. hirta, E. thymifolia* y *E. brasiliensis.*

SUMMARY

Phytomonas davidi (Lafont 1909) Donovan 1909 is reported from *Euphorbia hirta* L. collected in San Isidro de Coronado, San José, Costa Rica. Of 116 plants examined, 50 (43%) had the flagellate; no pathologic symptoms were shown by the plants. The same flagellate is reported from the Province of Limón in *E. hirta, E. thymifolia* and *E. brasiliensis.*

BIBLIOGRAFIA

1. DOFLEIN, F., & E. REICHENOW
1953. *Lehrbuch der Protozoenkunde.* VIII + 1214 pp. 6ª Ed. Gustav Fischer Verlag, Jena.

2. FRANCA, C.
1914. La flagellose des Euphorbes. *Arch. Protistenk.*, 34: 108-132.

3. FRANCHINI, G.
1922. Nouvelles recherches sur les trypanosomes des euphorbes et sur leur culture. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 15: 299-303.

4. FRANCHINI, G.
1923. Sur un protozoaire d'*Euphorbia cereiformis* et sur sa culture. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 16: 642-646.

5. GASCHEN, H.
1926. Contribution a l'étude de la flagelliase des Euphorbiacées en Suisse. *Mém. Soc. Vaudoise Sciences Naturelles*, 2: 317-351.

6. HARVEY, R. B., & S. B. LEE
1943. Flagellates of laticiferous plants. *Plant. Physiol.*, 18: 633-655.

7. LAFONT, A.
1910. Sur la présence d'un *Leptomonas*, parasite de la classe des flagellés, dans le latex de trois Euphorbiacées. *Ann. Inst. Pasteur*, 24: 205-219.

8. NIESCHULZ, O.
1924. Zur Morphologie der Kulturformen einer *Herpetomonas* aus *Euphorbia cereiformis*. *Zentralbl. Bakt. Abt. I. Orig.*, 61: 311-316.

9. NIESCHULZ, O.
1925. Die parasitischen Protozoen der Pflanzen *En:* Prowazek & Nöller, *Handbuch der pathogenen Protozoen*, 3: 1799-1813.

10. NOGUCHI, H. & E. B. TILDEN
1926. Comparative studies of Herpetomonas and Leishmanias. I. Cultivations of Herpetomonas from insects and plants. *Jour. Exper. Med.*, 44: 307-325.

11. NÖLLER, W.
1931. Die nächsten Verwandten der Blutflagellaten und ihre Beziehungen zu den blutbewohnenden Formen. En: Prowazek & Nöller, *Handbuch der pathogenen Protozoen*, 3: 1969-2143.

12. PÁEZ, H.
1961. Comunicación Personal.

13. RUÍZ, A.
1958. Contribución al estudio del género *Phytomonas* Donovan en Costa Rica. II. *Phytomonas elmassiani* (Migone, 1916) Wenyon, 1916. *Rev. Biol. Trop.*, 6: 263-272.

14. SEQUEIRA, JACCOUD R. J. de
1956. Contribução para o estudo da *Euphorbia brasiliensis* Lam. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 54: 103-113.

15. STRONG, R. P.
1924. Investigations upon flagellate infections. *Amer. Jour. Trop. Med.*, 4: 345-385.

16. WENYON, C. M.
1926. *Protozoology*. 2 vols. XVI + IX + 1563 pp. Bailliére, Tindall & Cox, London.

Rev. Biol. Trop., 9(2): 233-239, 1961

Glicósidos de Thevetia plumeriaefolia Benth. I

por

José Alberto Sáenz R.* y Maryssia Nassar C.**

(Recibido para su publicación el 21 de diciembre de 1961)

El género *Thevetia* es originario de América tropical y subtropical, sobre todo de México y Perú y difundida en casi todo el resto de Latinoamérica. *Thevetia plumeriaefolia* Benth. se presenta como un arbusto de amplia distribución, en Costa Rica, principalmente en la región del Pacífico, y se conoce entre nosotros vulgarmente con diversos nombres, tales como chirca venenosa, aunque ese mismo nombre se aplica a otras especies del género (10, 15, 19); en Colombia se le denomina azuceno (22).

Los frutos y el látex se han reportado como venenosos; se han usado popularmente en infusión, al 2 por mil en agua, contra afecciones febriles, catarros intestinales, reumatismo, etc. También se les atribuye propiedades de alexifármacos (14).

El presente trabajo describe un estudio preliminar de los glicósidos aislados de las semillas de *Thevetia plumeriaefolia* Benth.

Hasta donde sabemos, del género *Thevetia*, sólo *Th. neriifolia* Juss. *(peruviana* (Pers.) Merril) ha recibido atención, principalmente por parte de investigadores europeos y norteamericanos, quienes han utilizado para sus estudios plantas cultivadas en Hawaii o Asia (5, 22). Se ha comunicado, de dicha especie, la presencia de un glicósido cardiotónico denominado tevetina, sobre cuya composición, particularmente de la porción glicona, existe discrepancia entre los varios fitoquímicos (4, 7, 8, 12, 18, 20). Los trabajos realizados con la especie precitada por autores latinoamericanos son tan poco concluyentes que no significan contribución de valor en este campo (13, 16). Creímos así interesante enfocar nuestra atención a una especie de *Thevetia* que nunca con anterioridad fuera analizada.

PARTE EXPERIMENTAL

Se utilizaron semillas, hojas y tallos desecados en estufa a 55° C. Con las tres partes se procedió a realizar pruebas cualitativas para alcaloides con resulta-

* Depto. de Biología, Facultad de Ciencias y Letras.
** Sección Farmacognosia, Facultad de Farmacia.

do negativo. Lo mismo se hizo para glicósidos cardiotónicos según el procedimiento descrito por SHELLARD (18) para los glicósidos de las hojas de digital. Las tres partes citadas de la planta dieron resultado positivo siendo más intensa con las semillas, por lo que se siguió trabajando sólo con éllas. Estas se obtuvieron de frutos en pleno desarrollo, principalmente de las regiones de Río Segundo y Atenas, provincia de Alajuela, a aproximadamente 700 m sobre el nivel del mar. Se pulverizaron en mortero hasta obtener un polvo moderadamente grueso.

Sospechando la presencia de tevetina en la especie en estudio, decidimos realizar dos extracciones simultáneas según los métodos descritos por CHEN y CHEN (4) y por LAHIRI y col. (8) ambos para dicho principio. No obteniendo buenos resultados ni habiendo podido verificar la cristalización como lo indican aquellos autores, se estableció el siguiente procedimiento: 225 mg. de semillas pulverizadas se extrajeron cuatro veces a reflujo con 600, 400, 400 y 400 ml respectivamente de alcohol etílico absoluto. Cada extracción tomó dos horas y, separado el material insoluble por filtración, se reunieron los cuatro filtrados, procediéndose a concentrar el extracto alcohólico total al vacío, hasta un volumen de 200 ml; se colocó en una cápsula y se refrigeró a 0º C. durante 24 horas. La grasa así solidificada se separó por filtración en frío. Lo anterior se repitió hasta obtener un líquido libre de sedimento grasoso, que se trasvasó a otra cápsula para posterior tratamiento.

La grasa separada mediante los procedimientos de CHEN y CHEN (4) y LAHIRI y col. (8) al dejarla en reposo al ambiente, durante 48 horas, permitió obtener del fondo y los bordes del recipiente unos cristales que se aislaron por filtración, en caliente, del aceite. Se lavaron por decantación con éter, primero, y luego con alcohol etílico. Finalmente se purificaron cristalizándolos en una mezcla de partes iguales de éter y piridina.

Reacciones: { Lieberman-Buchard: +
Salkowiski: + }

Aparentemente se trata de un sitosterol, que ya había sido encontrado (4) en *Th. neriifolia* Juss. Sin embargo, como en este caso el principio adormece los labios y la mucosa bucal; causa irritación en la piel y es además estornutatorio, tenemos la presunción de que se trate de una saponina triterpenoide, que también daría positivas las reacciones apuntadas.

En próxima comunicación ampliaremos el estudio del principio citado.

En el aceite, purificado por filtración, se procedió a determinar algunos valores de índices:

Indice saponificación: 185,49; 185,60
Indice acidez: 4,2
Indice refracción: 1,4670

Finalmente, con relación al aceite, debemos indicar que se obtiene en un porcentaje de 66,6% p. p., proporción algo inferior a la obtenida en *Th. neriifolia* (6).

Continuando con el líquido alcohólico original desengrasado, éste se evaporó hasta sequedad en baño maría, lavando el residuo con porciones de 6 ml de éter de petróleo repetidamente. Luego de evaporado el éter, se adicionan 25 ml de alcohol etílico absoluto, se agita y se deja en reposo varias horas; se decanta el líquido supernadante y se diluye con 20 ml de alcohol 95º. Esta solución alcohólica se trata con subacetato de plomo hasta precipitación total; se filtra y al filtrado se le pasa una corriente de H_2S para eliminar el exceso de plomo (17). Se filtra y se concentra a baño maría hasta sequedad. El residuo se disuelve en 20 ml de alcohol etílico absoluto y se deja en reposo durante la noche. Al día siguiente se observó cristalización en el fondo del envase y hacia los bordes. Se decanta el líquido madre; se concentra a baño maría y vuelve a dejarse en reposo para obtener una nueva cristalización, aunque no tan abundante como la primera. Las dos porciones cristalinas se separan mecánicamente de los recipientes, se desecan en estufa a 30º C, obteniéndose un polvo cristalino grisáceo que se purifica por recristalización en una mezcla hidroalcohólica (1:5) a la que se adiciona alcohol absoluto hasta su precipitación. De esta manera se obtuvo un polvo blanco cristalino de sabor dulcete, al que se le hicieron los siguientes ensayos:

Punto de fusión: 193ºC

Benedict: negativo

Al obtener un ensayo de Benedict negativo se procedió a hidrolisar 10 mg de sustancia en 1 ml de agua, más 3 ml de HCl al 5%, calentando en baño maría durante un cuarto de hora; se enfrió y se repitió la reacción de Benedict, previa neutralización con carbonato de sodio. El resultado en este caso fue positivo con lo que se confirmó la naturaleza glicosidal del principio aislado.

Utilizando semillas de *Prunus amygdalus* var. *dulcis,* obtenidas en el comercio local, se aisló emulsina; tratando dicha mezcla enzimática con una solución del glicósido no se produjo la hidrólisis: reacción de Benedict negativa. Aparentemente el principio no posee enlace beta-glicosídico.

Al glicósido hidrolisado en medio ácido se le hicieron pruebas con S. R. $FeCl_3$, dando resultados negativos. Lo anterior evidenció la presencia de una porción glicona no fenólica, sino probablemente alcohólica. La naturaleza de dicha porción está bajo estudio y será reportada en próxima publicación.

Con este mismo principio se realizaron los siguientes ensayos:

Ensayo de Legal: —
Ensayo Keller-Killiani:—

Solubilidad: soluble en agua; ligeramente soluble en alcohol 95%.
Insoluble en solventes orgánicos: éter, cloroformo, etc.

Análisis elemental (11)

Nitrógeno: —
Azufre: —
Halógenos: —
C.H.O.: +

La solución madre alcohólica presentó un sabor amargo intenso; se evaporó a baño maría hasta consistencia siruposa y se disolvió en 100 ml de alcohol etílico; se sometió a la precipitación fraccionada con éter etílico, depositándose en el fondo del frasco, al cabo de 24 horas, un polvo amarillento que se aisló por decantación y que tiene sabor amargo intenso. Observado al microscopio presentó formas cristalinas aciculares agrupadas en roseta.

Solubilidad: alcohol etílico, metílico e isopropílico; ligeramente en agua.
Insolubilidad: éter, cloroformo.

Ensayos:

Ferrox: +
Benedict: —
Fehling: —

Análisis elemental:

Nitrógeno: —
Azufre: —
Halógenos: —
C.H.O.: +

Hidrólisis: Se trató de producir la hidrólisis de acuerdo con el procedimiento seguido por CHEN y CHEN (4) para tevetina. Se obtuvo un precipitado amorfo oscuro y el ensayo de Benedict dió negativo. Todo lo anterior nos hizo suponer en la carbonización del principio. Por ello, se procedió a hidrolisarlo con HCl al 5% a reflujo. Al cabo de una hora, aproximidamente, se observó la precipitación de una sustancia amorfa amarillenta, la cual se separó por centrifugación. En el líquido supernadante se efectuó el ensayo de Benedict y Fehling dando en ambos casos positivo. Con esto se confirmó la naturaleza glicosidal.

Pruebas para glicósidos cardiotónicos:
Reacción con ácido 3-5 dinitro benzoico (21): +
Reacción de Legal modificada (8): +
Reacción Keller-Killiani: —

Determinado el punto de fusión dió un valor de 179-180°C. o sea diferente a los varios reportados para tevetina (1).

Análisis cromatográfico. A fin de determinar la naturaleza de las porciones glicónica y aglicónica del principio cardiotónico, se procedió a determinar el Rf mediante cromatografía en papel. Como estandard, dada la imposibilidad de conseguir tevetina, se empleó digitoxina aislada de hojas secas y pulverizadas de *Digitalis purpurea* L. Del glicósido aislado se utilizó una solución al 0.5% en

agua. Se siguió el método de SVENDSEN y JENSEN (1, 2, 3, 9) que utiliza ácido tricloroacético en cloroformo y luz U.V. para reconocer las manchas; como solvente: cloroformo, metanol, agua 3: 4: 3.

La cámara se saturó con la fase móvil durante 24 horas. Luego se procedió al desarrollo durante 10 horas. Los siguientes fueron los valores obtenidos.

Glicósido aislado Rf= 0.86
Digitoxina estandard= 0.91

Realizado el ensayo con las agliconas se obtuvieron los siguientes resultados.

Aglicona estandard: 0.87 (Digitoxigenina)
Aglicona incógnita: 0.87

Se deduce de lo anterior, que la aglicona del principio aislado es semejante a la de digitoxina y tevetina (20, 21).

La composición de la parte glicona se obtuvo por cromatografía en papel utilizando dos métodos:

1. Método de Trevelyan 1950, modificado por Dedonder 1952 (1), con papel Whatman Nº 1 y como fase móvil n-butanol; etanol; agua (4: 1.1: 1.9). La cámara se saturó durante 24 horas y el cromatograma descendente se desarrolló por un período similar.

Rf solución glucosa estandard al 1%: 0.21
Rf solución ramnosa estandard al 1%: 0.28
Rf glicósido hidrolisado al 0.45%: 0.21

2. Según Partridge 1941 (1); ascendente, empleando como fase móvil n-butanol saturado con agua. Desarrollo durante 12 horas.

Rf glicósido hidrolisado: 0.17
Rf solución de glucosa: 0.17
Rf solución de ramnosa: 0.23

En el glicósido así hidrolisado se demuestra la presencia únicamente de glucosa en la porción glicona que bien pudiera ser en forma de gentiobiosa.

DISCUSION

El presente trabajo nos ha demostrado la presencia, en las semillas de la especie *Thevetia plumeriaefolia* Benth., de un aceite fijo; un principio separado del aceite que responde a las reacciones de triterpenoides y que bien puede ser un sitosterol o una saponina; dos glicósidos, uno de ellos aparentemente alcohólico y otro de tipo digitálico, cuyo análisis cromatográfico indica la presencia del núcleo de la digitoxigenina en la porción aglicona y glucosa en la parte azucarada.

Se deduce con los resultados aquí indicados, que el glicósido cardiotónico no es igual, al menos en la porción azucarada, a la tevetina reportada en la espe-

cie *Th. neriifolia* Juss. La reacción de Keller-Killiani negativa demuestra la ausencia de 2-desoxiazúcares en la molécula. En este último aspecto coincidimos con CHEN y CHEN (4) en su informe sobre tevetina, pero diferimos de LAHIRI y col. (8) quienes comunican Keller-Killiani positivo para el mismo principio.

El análisis elemental realizado con el glicósido no cardiotónico, así como sus propiedades físicas, coinciden con los datos reportados por CHEN y CHEN (5) para el glicósido que denominaron Kokilphin (5).

A fin de verificar los diversos datos dados a conocer para tevetina, hemos decidido emprender el análisis de la especie *Th. neriifolia Juss,* cuyos resultados, así como los concernientes a los principios anotados en este trabajo, serán objeto de próxima publicación.

RESUMEN

Las semillas de *Thevetia plumeriaefolia* Benth. contienen dos glicósidos, uno de ellos alcohólico, el otro cardiotónico, similar a tevetina obtenido de las semillas de *Thevetia neriifolia* Juss. Se discute la composición de la glicona de los dos glicósidos aislados y de la aglicona del principio cardiotónico.

SUMMARY

Seeds of *Thevetia plumeriaefolia* Benth. contain two glycosides, one of them alcoholic, the other a cardiotonic compound similar to thevetin obtained from *Thevetia neriifolia* Juss. The composition of the glycone of both glycosides and the aglycone part of the cardiotonic principle is discussed.

BIBLIOGRAFIA

1. BELL, D. J.
   1955. Mono- and oligosaccharides and acidic monosaccharide derivatives. En K. Paech & M. V. Tracey (ed.).*Modern Methods of Plant Analysis* Vol. 2: 7 - 17. Springer - Verlag, Berlín - Gottingen. Weidelberg.

2. BUSH, I. E., & A. H. TAYLOR
   1952. The paper chromatography examination of cardiac aglycones of *Strophantus* seeds. *Biochem. J.,* 3: 643 - 648.

3. CASSIDY, M. G.
   1957. *Fundamentals of Chromatography.* xvii + 447 pp. Interscience Publishers Inc., New York.

4. CHEN, K. K., & A. L., CHEN
   1934. The constituents of be-still nuts, *Thevetia neriifolia. J. Biol. Chem.,* 105: 231 - 240.

5. CHEN, K. K., & A. L., CHEN
   1934. The action of crystalline thevetin, a cardiac glycoside of *Thevetia neriifolia. J. Pharmacol. Exp. Therap.,* 51: 23.

6. ECKEY, E. W.
1954. *Vegetable fats and oils,* ix + 863 pp. Amer. Chem. Monograph series. Reinhold Publishing Corp. New York.

7. GHATAK, N.
1932. Chemical examination of the seeds of *Thevetia neriifolia. Bull. Acad. Sc. United Provinces,* Agra, Oudh, India, 2: 79.

8. LAHIRI, J. K., S. GHOSH, & R. N. CHOPRA
1938. Herstellung von reinem Thevetin aus dem Samen von *Thevetia neriifolia,* Juss. *Arch. Pharm.,* 276: 345 - 347.

9. LEDERER, M., & E. LEDERER
1957. *Chromatography.* 2 ed., xx + 711 pp. Elsevier Publishing Co. Amsterdam.

10. MARTÍNEZ, M.
1939. *Plantas Medicinales de México.* 2ª ed. 628 pp. Ediciones Botas de México.

11. MCELVAIN, S. M.
1953. La caracterización de compuestos orgánicos. Análisis orgánico funcional xvi + 267 pp. Aguilar S. A., Madrid.

12. MC ILROY, R. J.
1951. *The Plant Glycosides.* 138 pp. Edward Arnold & Co., London.

13. OCAMPO, MA. FELICIA
1957. La chirca *(Thevetia peruviana* K. Schumann) 45 pp. Tesis de grado. Escuela de Farmacia, Universidad de Costa Rica.

14. PÉREZ, C. R.
1938. *Sinopsis de medicina vegetal.* 435 pp. Imprenta Borrasé, Costa Rica.

15. PITTIER, H.
1957. *Ensayo sobre plantas usuales de Costa Rica.* 2 ed., 264 pp. + 49 figs. Editorial Universitaria, Universidad de C. R. San Pedro, Costa Rica.

16. PORTILLA, CONSUELO DE LA
1954. Tesis de grado sobre *Thevetia neriifolia. An. Escuela Farm. Bioquim.,* 5: 512. Lima, Perú.

17. ROJAHN, C. A.
1946. *Productos químicos y farmacéuticos.* Trad. F. Girald, Vol. 3: 2016-2024. Editorial Atlante S. A. México.

18. SHELLARD, E. J.
1957. *Practical plant chemistry for pharmacy students.* xix + 134 pp. Pitman Medical Publishing co. London, England.

19. STANDLEY, P. C.
1937-1938. *Flora of Costa Rica.* Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser., 18, 4 partes, 1616 pp. Chicago, U.S.A.

20. STECHTER, D. G., (ed.)
1960. *The Merck Index.* xi + 1641 pp. 7 ed., Merck & Co. Inc. Rahway, N. J., U.S.A.

21. STEINER, M. & H. HOLTZEN.
1955. Herzglycoside. En K. Paech & M. V. Tracey (ed.), *Modern Methods of Plant Analysis.* Vol. 3: 205 - 271. Springer - Verlag. Berlín - Gottingen. Weidelberg.

22. YOUNGKEN, H. W.
1951. *Tratado de Farmacognosia.* xx + 1375 pp. Trad. F. Girald. Editorial Atlante S. A., México.

Rev. Biol. Trop., 9(2): 241-251, 1961

Estudios sobre hematozoarios XI. Infecciones experimentales con Plasmodium vivax*

por

Rodolfo Pérez-Reyes**

(Recibido para su publicación el 11 de diciembre de 1961)

Diferentes autores, especialmente norteamericanos, han estudiado ampliamente el comportamiento de varias cepas de *Plasmodium vivax* y han demostrado que existen por lo menos dos tipos principales en cuanto a longitud del período latente: las cepas de "recidivas a corto plazo" y las de "recidivas a largo plazo". Las primeras dominan en zonas donde la transmisión se efectúa a lo largo de todo el año, mientras que las segundas predominan en lugares donde la transmisión es estacional.

A pesar de la importancia que tiene el conocimiento de estos aspectos en relación con la epidemiología del paludismo, poco o nada se sabe del comportamiento de las cepas mexicanas de *P. vivax*.

BELTRÁN (1) y BELTRÁN y AGUIRRE PEQUEÑO (2) realizaron una serie de estudios con *P. vivax, P. malariae* y *P. falciparum* en neurosifilíticos. Desgraciadamente practicaron sus inoculaciones mediante la inyección de sangre infectada, de manera que no obtuvieron datos sobre las recidivas.

Nosotros hemos tenido la oportunidad de disponer de un insectario adecuado y de estudiar enfermos asilados en el Manicomio General, algunos de ellos por un tiempo suficientemente largo para determinar el período de latencia.

MATERIAL Y METODOS

Los individuos inoculados fueron exclusivamente enfermos mentales asilados en el Manicomio General, que requerían tratamiento por piretoterapia. Todos fueron mestizos, con edades que oscilaron entre 20 y 62 años. En cada caso se registró el lugar de procedencia y cuando fue posible se obtuvieron datos sobre permanencia en zonas donde el paludismo es endémico y sobre ataques

* Trabajo costeado por la Comisión Nacional para la Erradicación del Paludismo.

** Departamento de Parasitología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México D. F.

previos del padecimiento. Para nuestros propósitos, consideramos con antecedentes de paludismo a todas aquellas personas que padecieron la enfermedad, o que residieron en zonas endémicas.

La cepa de *P. vivax* que utilizamos en estas pruebas fue aislada por nosotros de un individuo que adquirió la enfermedad en Martínez de la Torre, Veracruz, población situada cerca de la costa del Golfo de México. Con sangre de este individuo se inocularon tres enfermos mentales y a partir de ellos, la cepa se mantuvo principalmente por inoculaciones con esporozoítos, y solamente de una manera ocasional, por inoculación con sangre.

En un principio, las inoculaciones con esporozoítos se realizaron mediante picaduras repetidas de 2 a 4 hembras de *Anopheles quadrimaculatus* fuertemente parasitadas, cosa que se comprobó por disección posterior de los insectos. Este procedimiento resultó poco práctico debido a que las múltiples manipulaciones afectan la supervivencia y la actividad de los mosquitos; por tanto, después de unas cuantas pruebas, decidimos realizar las inoculaciones mediante la inyección subcutánea de 2 a 6 glándulas parasitadas, suspendidas en una mezcla de una parte de suero humano y dos de solución salina fisiológica.

Las inoculaciones con parásitos hemáticos se realizaron mediante la inyección endovenosa o intramuscular de 5 a 10 ml de sangre infectada conteniendo entre 1 y 30 millones de células parasitadas.

La vigilancia se inició, en el caso de individuos inoculados con sangre, a los dos días de la infección, y en el caso de los inoculados con esporozoitos, a los 9 días. Al principio se examinaron gotas gruesas, hasta la aparición de las primeras formas hemáticas, y después se efectuaron cuentas diarias, de acuerdo con la técnica de EARLE y PÉREZ (7), hasta la desaparición de las mismas.

Cuando desaparecieron los parásitos de la sangre periférica, ya sea por tratamiento o por recuperación espontánea, la vigilancia se continuó mediante el examen de una gota gruesa semanal, tomada siempre el mismo día de la semana. En caso de una nueva invasión hemática, se repitió la cuenta diaria.

Todas las muestras se tiñeron con el colorante de Giemsa y fueron observadas con objetivo de inmersión a 540 diámetros de aumento. Antes de anotar una muestra como negativa, se examinó la gota gruesa durante 6 minutos.

RESULTADOS

Se inocularon 82 individuos, 16 con trofozoitos y 66 con esporozoitos. De ellos 79 desarrollaron infección sanguínea y tres no, a pesar de que se inocularon cada uno en tres ocasiones, empleando suspensiones de esporozoítos que fueron infectivas para individuos inoculados simultáneamente.

En los inoculados con sangre, el período prepatente varió entre 3 y 11 días (promedio 6). En los inoculados con esporozoítos el período prepatente varió entre 10 y 18 días (promedio 13,2), excluyendo a un individuo con incubación larga (seis meses) después de haber sido picado por dos mosquitos infectados.

En general las personas suceptibles muestran en los primeros días de infección, fiebre cotidiana; en cambio los semi-inmunes y los casos de recidiva,

dieron normalmente infección sincrónica, con fiebre terciana.

Para los propósitos de este estudio, la observación de la parasitemia sanguínea se ha limitado a los primeros 15 días, ya que por causas diversas, muchos enfermos fueron tratados al final de este período.

De acuerdo con la evolución del padecimiento y los antecedentes individuales, hemos formado cuatro grupos con las personas inoculadas:

1) Susceptibles y sin antecedentes de paludismo.
2) Sin antecedentes de paludismo pero con inmunidad fuerte.
3) Con antecedentes de paludismo e inmunidad fuerte.
4) Con antecedentes de paludismo e inmunidad limitada.

A continuación anotamos la evolución de la parasitemia en cada uno de los cuatro grupos mencionados, tanto entre los inoculados con esporozoítos (gráfica 1), como entre los inoculados con sangre (gráfica 2).

INOCULADOS CON ESPOROZOÍTOS. El total de 66 individuos inoculados con esporozoítos se divide de la manera siguiente:

GRUPO 1. 40 personas fueron susceptibles y no dieron antecedentes de paludismo. En ellos la parasitemia se elevó rápidamente. Al quinto día la media geométrica era de 6.115 parásitos por mm^3, y tres días más tarde se alcanzó la cúspide, con una media geométrica de 13.843 parásitos por mm^3, para bajar después lentamente y al final del período de estudio, la media geométrica fue de 8.978 parásitos por mm^3 (gráfica 1).

GRUPO 2. Ocho individuos sin antecedentes de paludismo y originarios de lugares que se consideran libres de la enfermedad, incluyendo a tres que siempre han radicado en la Ciudad de México, mostraron inmunidad en grado comparable a la observada entre los individuos del grupo 3. La media geométrica se elevó al principio con rapidez, llegando a 5.103 parásitos por mm^3 al quinto día, pero en los días subsecuentes apenas sufrió un ligero incremento, de manera que en la cúspide (sétimo día) el promedio fue de solamente 6.479 parásitos por mm^3 y a continuación descendió de una manera contínua, con excepción de una ligera alza observada el día 12, para llegar prácticamente a cero al final del estudio (gráfica 1).

GRUPO 3. En los individuos procedentes de zonas palúdicas o con antecedentes de la enfermedad, la curva de parasitemia es semejante a la que acabamos de describir.

Desde luego, para los promedios se tomaron en cuenta únicamente las personas que desarrollaron parasitemia, eliminándose a los tres que fueron refractarios.

La media geométrica en este grupo, se elevó rápidamente hasta el cuarto día, con una magnitud comparable a la observada entre los susceptibles, pero al quinto día era solamente la mitad de la encontrada en el grupo 1. El máximo se alcanza al sexto día de infección sanguínea, con una media de 5.191 parásitos por mm^3, o sea menos de la mitad del máximo alcanzado en los suceptibles (gráfica 1). A continuación la curva descendió casi con la misma velocidad con que se elevó, llegando prácticamente a cero a los 12 días. Al final del período de estudio, solamente un individuo mostraba muy escasos parásitos, mientras que los

ocho restantes eran negativos al exámen microscópico.

GRUPO 4. Incluye a seis individuos con antecedentes de paludismo, pero con inmunidad reducida. Dos de ellos dijeron haber padecido la enfermedad en su infancia, mientras que los cuatro restantes habían sido inoculados con anterioridad, uno de ellos en el Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales de esta ciudad, sin que se conozcan los datos referentes a cepa empleada y duración de la infección, y los tres restantes fueron inoculados por nosotros con la misma cepa; uno mediante sangre, seis meses antes, con una parasitemia de 24 días que fue interrumpida por tratamiento supresivo; los dos últimos fueron inoculados con esporozoítos y desarrollaron parasitemias de 19 y 21 días de duración, que también fueron interrumpidas por tratamiento.

Estos seis individuos mostraron infecciones sanguíneas bajas. La media geométrica alcanzó su máximo al sétimo día con una cuenta de 5.115 parásitos por mm³, comparable a la observada en los inmunes típicos, y aunque en seguida se redujo a 1.506, mostró un nuevo ascenso hasta 3.652; al final del período de observación la media era muy baja (318 parásitos por mm³), pero en ningún caso desapareció espontáneamente en el período de estudio.

INOCULADOS CON TROFOZOÍTOS. Entre los 16 inoculados con sangre, solamente pudimos distinguir dos grupos, que corresponden al 1 y al 3 de los inoculados con esporozoítos.

GRUPO 1. Doce personas sin antecedentes de paludismo, fueron completamente susceptibles a la enfermedad. En ellos, al igual que observamos entre los inoculados con esporozoítos, la parasitemia se elevó para alcanzar su cúspide al sexto día del período patente, con una media geométrica de 13.157 parásitos por mm³; después descendió ligeramente y el día 12 se observó una nueva elevación, algo mayor que la anterior, que debe atribuirse a que en esa fecha se descartaron 5 personas que fueron tratadas, y de las 7 restantes, dos mostraban parasitemias altas (34.490 y 27.270), por lo cual la media geométrica se elevó anormalmente.

GRUPO 3. Cuatro individuos con antecedentes de paludismo eliminaron los parásitos de su sangre en un máximo de 12 días. La cúspide de la curva (gráfica 2) fue de solamente 1.844 parásitos por mm³ y las formas hemáticas desaparecieron al exámen microscópico, entre el 8º y el 12º días.

La inmunidad natural parece relativamente baja entre los individuos que participaron en la prueba; 60 de ellos proceden de zonas no palúdicas y no indicaron antecedentes de la enfermedad. Al ser inoculados con esporozoítos o con sangre parasitada, 52 (86,3%) fueron susceptibles y desarrollaron parasitemias que, en su punto más alto, generalmente fueron mayores de 10.000 parásitos por mm³ y siempre mayores de 3.000 parásitos por mm³. En ellos, a partir del cuarto día de parasitemia sanguínea, las cuentas fueron siempre mayores a 1.500 parásitos por mm³.

Los ocho restantes (13,3%) presentaron infecciones transitorias; cuatro mostraban parásitos al final de 15 días, mientras que los restantes eran negativos.

No se elimina la posibilidad de que alguno de estos individuos, hubiera padecido paludismo en alguna época sin guardar recuerdo, ya sea por la edad

a que lo padecieron o por su estado mental actual.

En cambio la inmunidad adquirida es considerable, pues de 22 personas procedentes de lugares palúdicos o con antecedentes de la enfermedad, 16 (72,7%) mostraron inmunidad fuerte, que se tradujo en infecciones transitorias que terminaron espontáneamente en el transcurso de los 15 días de observación, e inclusive, tres de estos individuos (13,6%) fueron completamente refractarios a tres inoculaciones con esporozoítos.

Otros seis mostraron infecciones intermedias, con tendencia a la desaparición espontánea, aunque se mantuvieron activas durante todo el período de observación.

En general, los individuos que hemos catalogado dentro del grupo 1 muestran una tendencia a desarrollar infecciones con parasitemias más altas que en los tres grupos restantes, como puede observarse en las gráficas 1 y 2 y en el cuadro 1; sin embargo, hay grandes variaciones individuales dentro de cada grupo.

El período de latencia entre el ataque inicial y la primera recidiva, fue de 23 a 37 semanas (cuadro 2), con un promedio de 196,0 días ± 3,77, en 15 casos observados. Tres casos que mostraron segunda recidiva la desarrollaron entre 8 y 9 semanas después del tratamiento de la primera. En un solo caso de tercera recidiva, ésta apareció a las 4 semanas del tratamiento de la segunda.

CUADRO 1

Parasitemias máximas en individuos inoculados experimentalmente con *Plasmodium vivax.*

Inoculados con	Grupo*	Núm. de Individuos	PARASITEMIA MAXIMA desde	hasta	promedio
Esporozoitos	1	40	2.975	126.690	26.796
	2	8	3.686	17.205	12.059
	3	9	620	19.390	9.318
	4	6	3.640	19.053	11.087
Sangre	1	12	6.860	43.050	22.406
	3	4	400	12.225	5.765

* Grupo 1. Susceptibles y sin antecedentes de paludismo.
Grupo 2. Sin antecedentes de paludismo pero con inmunidad fuerte.
Grupo 3. Con antecedentes de paludismo e inmunidad fuerte.
Grupo 4. Con antecedentes de paludismo e inmunidad limitada.

CUADRO 2

Período de latencia en la cepa "Veracruzana", comparado con los de las cepas Sta. Elizabeth y Coreana de *Plasmodium vivax.*

Cepa	Núm. de casos	PERIODO DE LATENCIA variación	promedio	error estand.
St. Elizabeth	79	137 a 327 días	275,6 días	± 4,04
"Veracruzana"	15	161 a 259 días	196,0 días	± 3,77
Coreana	137	39 a 247 días	68,6 días	

DISCUSION

Se ha escrito mucho sobre la inmunidad adquirida en el paludismo. En general se considera como no esterilizante, reducida a la cepa homóloga del parásito (BOYD, 4, 5; GOODWIN, 9; RUSSELL, 11; SERGENT, 12; SERGENT y SERGENT, 13; YOUNT y GOGGESHALL, 14) y que desaparece con relativa facilidad (SERGENT y SERGENT, 13; YOUNT y GOGGESHALL, 14).

Entre las personas que estudiamos, el cuadro parece ser diferente. En primer lugar proceden de lugares situados en partes opuestas de la República, tales como Nayarit y Guerrero en la costa del Pacífico y Tamaulipas en la costa del Golfo de México. Los individuos que resultaron refractarios a la enfermedad procedían, uno de Sinaloa, en la costa noroeste, otro de Michoacán, en la parte central del país, y el tercero de Chiapas, el Estado más meridional. La cepa que empleamos en las inoculaciones procedía, como ya indicamos, de Veracruz, Estado costero del Golfo de México. Por tanto, si como suponen algunos autores, la inmunidad se restringe a la cepa homóloga, tendríamos que aceptar que en todo el país existe la misma cepa de *P. vivax,* cosa que nos parece muy poco probable, dadas las diferencias climáticas y de transmisión que se encuentran en las diversas zonas. BELTRÁN y VILLASANA (3) también encontraron inmunidad cruzada en dos cepas aisladas en Estados centrales de la República.

Es probable que el grado y amplitud de la inmunidad dependan, más que nada, del número de accesos previos, como ya lo han señalado algunos autores, y del tiempo que permanezcan los parásitos en la sangre. Tres individuos que inoculamos nosotros mismos con anterioridad, y a los cuales se les administró tratamiento supresivo, y otro más, inoculado en el Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales, mostraron inmunidad reducida, lo que sugiere que la infección no tuvo la duración suficiente para provocar una inmunidad sólida.

En cambio en otro de nuestros pacientes, que fue inoculado con esporozoítos y desarrolló una infección moderada, con cuenta máxima de 16.534 parásitos por mm^3, y en el cual la enfermedad se dejó evolucionar espontáneamente, el cuadro es completamente distinto. La infección sanguínea tuvo una duración de 59 días, después de lo cual desaparecieron los parásitos y no volvieron a aparecer en 58 semanas. Al cabo de este tiempo, el individuo fue inoculado nuevamente, ahora con 30.000.000 de células parasitadas por vía intramuscular; los parásitos se obtuvieron de un enfermo procedente de Playa Azul, Michoacán, en la costa del Pacífico. No mostró parásitos sanguíneos en 12 semanas de observación.

En algunos individuos, la inmunidad parece tener una persistencia considerable. Uno de los que resultaron refractarios a tres inoculaciones, indicó haber padecido la enfermedad en su infancia y reside permanentemente en la Ciudad de México, desde hace 20 años. Otro individuo, que mostró parasitemia transitoria con duración de 14 días, ha estado 13 años fuera de zonas palúdicas, habiendo vivido todo ese tiempo, en la misma Ciudad de México. El trabajo de YOUNT y COGGESHALL (14), parece conducir a similares conclusiones, pues aún cuando en la discusión anotan (pág. 705): "This residual humoral immu-

nity, however, is rapidly lost". un poco antes (pág. 703) indican: "From the table 1 it may be concluded that we were unable to demonstrate any significant relation between host resistance and the interval between chemotherapeutic cure and reinfection".

La inmunidad se refiere exclusivamente a las formas eritrocíticas, como lo indicaron previamente varios autores y lo confirmaron GARNHAM y BRAY (8) por estudio histopatológico. El período prepatente entre los individuos con cierto grado de inmunidad (excluyendo a uno con incubación prolongada) es de 13,1 días en promedio, comparado con 13,3 que mostraron los individuos susceptibles.

El período de latencia es intermedio al observado en la cepa St. Elizabeth, aislada en Estados Unidos de Norteamérica y la cepa Coreana. El cuadro 2 muestra los datos respectivos, tomados de COATNEY y col., (6) y HANKEY y col. (10).

El período más largo de actividad parasitaria, fue de aproximadamente 11 meses, y se observó en un individuo que mostró tres recidivas. Fue inoculado el 24 de agosto de 1959 y los parásitos se hicieron visibles en su sangre 12 días más tarde; la tercera recidiva se hizo patente el 18 de julio de 1960.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos las facilidades brindadas para el desarrollo de este trabajo, a las Autoridades del Manicomio General y a los médicos del mismo, Dres. Dionisio Nieto, Santiago Castillejos, Regino del Pozo, José Chávez Almazán y Francisco Elizarrarás.

RESUMEN

Se inocularon 82 enfermos mentales con *Plasmodium vivax*. De ellos, 66 fueron infectados con esporozoítos obtenidos en *Anopheles quadrimaculatus* y 16 mediante sangre parasitada. Tres individuos fueron completamente refractarios a tres inoculaciones cada uno, con suspensiones de esporozoítos que resultaron infectivas para otros pacientes inoculados al mismo tiempo. Los 79 restantes desarrollaron infección sanguínea.

La cepa del parásito fue aislada por el autor a partir de un individuo con infección natural, que procedía de Martínez de la Torre, Veracruz, población relativamente cercana a la costa del Golfo de México.

El grado de inmunidad no depende del sitio de procedencia de los individuos. Personas procedentes de sitios opuestos del país, mostraron un grado de inmunidad similar.

La persistencia de la inmunidad puede ser considerable. Un individuo refractario a la infección tiene 20 años de residir en la Ciudad de México, donde no existe el padecimiento. Otro individuo con fuerte resistencia, ha vivido por 13 años en la misma Ciudad.

El período de latencia en 15 personas que mostraron recidiva, fue de 161 a 259 días (promedio 196,0 días). El período más largo de actividad parasitaria que se encontró fue de aproximadamente 11 meses.

SUMMARY

Eighty-two mental patients were inoculated with *Plasmodium vivax*. Sixty-six of them were infected with sporozoites obtained from *Anopheles quadrimaculatus* and 16 with parasitized blood. Three individuals were completely resistant to infection after three inoculations each, with suspensions of sporozoites which were infective on other patients inoculated simultaneously. The other 79 patients developed blood infection. The strain of *Plasmodium* was obtained by the author from a case of natural infection from Martínez de la Torre, Veracruz, near the Gulf coast.

The degree of immunity was independent of the geographical origin of the patients. Persons from widely separated points showed similar degrees of immunity. The persistence of immunity may be considerable. One immune individual has been a resident of Mexico City, where there is no malaria, for twenty years. Another patient showing considerable resistance to infection has lived in Mexico City for thirteen years. The period of latency in 15 patients showing relapse ranged from 161 to 259 days (mean, 196.0 days). The longest period of parasite activity observed was of approximately 11 months.

REFERENCIAS

1. BELTRÁN, E.
   1948. Experiencias en trabajos de paludoterapia con *Plasmodium vivax*. *Gaz. Med. de México*, 78: 197-208.

2. BELTRÁN, E., & E. AGUIRRE PEQUEÑO
   1948. *Lecciones de paludología* Inst. Invest. Cient. Univ. Nuevo León, Monterrey, México.

3. BELTRÁN, E., & L. VILLASANA V.
   1945. Estudio experimental comparado de dos cepas mexicanas de *Plasmodium vivax*. *Rev. Inst. Salubr. Enf. Trop.*, México, 6: 103-108.

4. BOYD, M. F.
   1947. A review of studies on immunity to *vivax* malaria. *J. Nat. Malar. Soc.*, 6: 12-31.

5 BOYD, M. F.
   1949. Epidemiology of malaria: factors related to intermediate host. En *Malariology*, M. F. Boyd ed. W. B. Saunders Co., Philadelphia & London.

6. COATNEY, G. R., W. C. COOPER, D. S. RUHE, M. D. YOUNG & R. W. BURGESS
   1950. Studies in human malaria. XVIII. The life pattern of sporozoite-induced St. Elizabeth strain *vivax* malaria. *Amer. J. Hyg.*, 51: 200-215.

7. EARLE, W. C., y M. PÉREZ.
   1932. Enumeration of parasites in the blood of malaria patients. *J. Lab. & Clin. Med.*, 17: 1124.

8. GARNHAM, P. C. C., & R. S. BRAY

1956. The influence of immunity upon the stages (including late exoerythrocytic schizonts) of mammalian parasites. *Rev. Brasil. Malariol.*, 8: 151-160.

9. GOODWIN, L. G.
1958. The chemotherapy of some protozoal infections. En *The strategy of chemotherapy* Cambridge Univ. Press.

10. HANKEY, D. D., R. JONES JR., G. R. COATNEY, A. S. ALVING, W. G. COKER, P. L. GARRISON & W. N. DONOVAN
1953. Korean *vivax* malaria. I. Natural history and response to chloroquine. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.*, 2: 958-969.

11. RUSSELL, P. F.
Paludismo. Prensa Médica Mexicana, México, D. F.

12. SERGENT, ED.
1955. La prémunition antipaludique et les acces de prémunis. *Arch. Inst Pasteur d'Algérie*, 33: 307-309.

13. SERGENT, ED., y ET. SERGENT.
1956. History of the concept of "relative immunity" or "premunition" correlated to latent infection. *Ind. J. Malariol.*, 10: 53-80.

14. YOUNT, E. H., y L. T. COGGESHALL.
1949. Status of immunity following cure of recurrent *vivax* malaria. *Amer. J. Trop. Med.*, 29: 701-705.

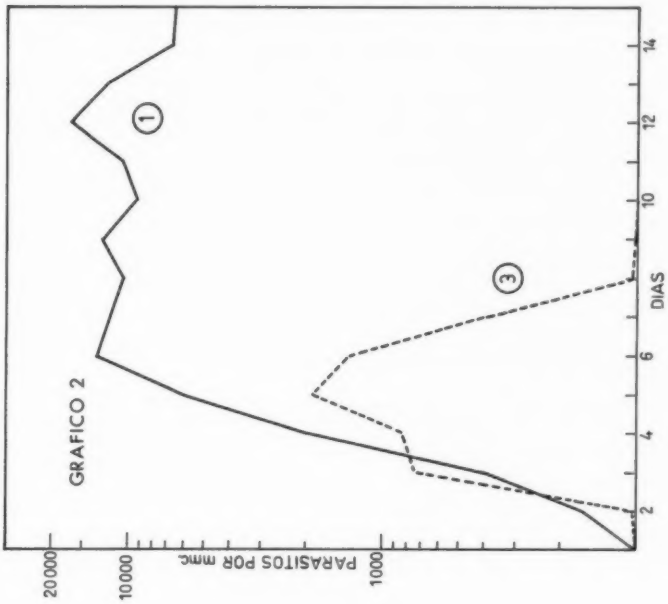


GRAFICO 2
PARASITOS POR mm³
20000
10000
1000
DIAS
2
4
6
10
12
14
1
3

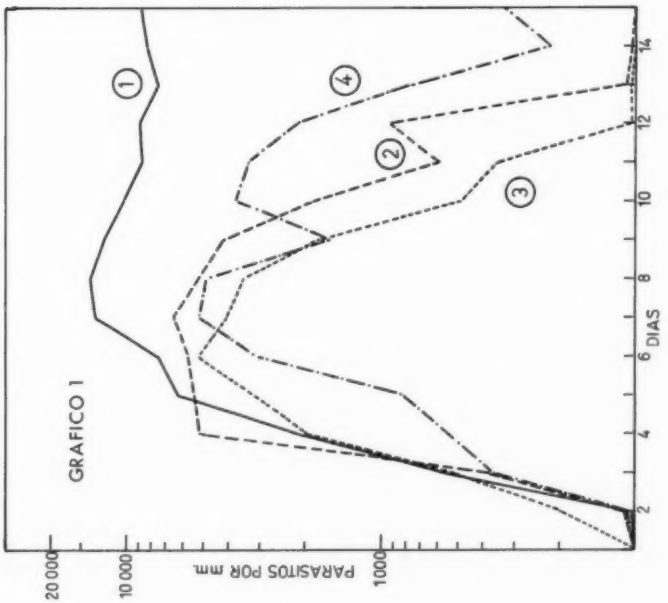


GRAFICO 1
PARASITOS POR mm³
20 000
10 000
1000
DIAS
2
4
6
8
10
12
14
1
2
3
4

INDICE DE AUTORES Y TRABAJOS DEL VOLUMEN 9

AGÜERO, A.—Ver Jiménez-Quirós, O., p. 107.

BIAGI, F., C. E. BRICEÑO & BERTA MARTÍNEZ.—Diferencia entre *Cysticercus cellulosae* y *C. racemosus* 141

BRENES, R. R.—Catálogo de los helmintos parásitos de Costa Rica 67

BRICEÑO, C. E.—Ver. Biagi, F., p. 141.

CABALLERO y C., E.—Situación taxonómica de las especies del género *Mehlisia* S. J. Johnston, 1913 (Trematoda, Digenea) 61

CABALLERO y C., E., L. FLORES-BARROETA & ESPERANZA HIDALGO.—Investigaciones sobre dermatitis esquistosómica en el Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México. I. Descripción de una nueva forma de cercaria 17

CARVALHO, C. de.—Esboço mastofaunistico do territorio do Rio Branco 1

CARVALHO, C. de.—Sobre os hábitos alimentares de Phillostomídeos (Mammalia, Chiroptera) 53

FAIRCHILD, G. B.—A preliminary checklist of the Tabanidae (Diptera) of Costa Rica 23

FLORES-BARROETA, L.—Ver Caballero y C., E., p. 17.

FLORES-BARROETA, L., ESPERANZA HIDALGO & F. MONTERO-GEI.—Cestodos de vertebrados. VIII. 187

FUENTES, L. G.—Distribución de los grupos sanguíneos en indios guatusos de Costa Rica 131

HIDALGO, ESPERANZA.—Ver Caballero y C., E., p. 17.

HIDALGO, ESPERANZA.—Ver Flores-Barroeta, L., p. 187.

JIMÉNEZ-QUIRÓS, O., A. AGÜERO & R. SABORÍO.—Manifestaciones alérgicas en oftalmología. 2. Queratitis ulcerativa y glaucoma agudo recidivante por sensibilización parasitaria a *Ascaris lumbricoides* y *Entamoeba histolytica* 107

KLUGE, A. G.—Ver Savage, J., p. 39.

LIZANO, CECILIA.—Ver Sáenz, C., p. 171.

MARTÍNEZ, BERTA.—Ver Biagi, F., p. 141.

MONTERO-GEI, F.—Ver Flores-Barroeta, L., p. 187.

NASSAR, MARYSSIA.—Ver Sáenz, J. A., p. 233.

ORTIZ, F.—Ver Ruiz, A., p. 215.

PÉREZ-REYES, R.—Estudios sobre hematozoarios. XI. Infecciones experimentales con *Plasmodium vivax* 241

RUIZ, A.—Ciliados de vida libre de la Ciudad Universitaria, Costa Rica 209

RUIZ, A.—Contribución al estudio del género *Phytomonas* Donovan en Costa Rica. III *Phytomonas davidi* (Lafont, 1909) Donovan, 1909 227

RUIZ, A., & F. ORTIZ.—Eimerias de los bovinos de Costa Rica. II Incidencias en terneros 215

SABORÍO, R.—Ver Jiménez-Quirós, O., p. 107.

SÁENZ, C., & CECILIA LIZANO.—A contribution to the study of hookworm disease in infants 171

SÁENZ, J. A. & MARYSSIA NASSAR.—Glicósidos de *Thevetia plumeriaefolia* Benth. I. 233
SAVAGE, J. M., & A. G. KLUGE.—Rediscovery of the strange Costa Rica toad, *Crepidius epioticus* Cope 39
TAMSITT, J. R., & D. VALDIVIESO.—Notas sobre actividades nocturnas y estados de reproducción de algunos Quirópteros de Costa Rica 219
VALDIVIESO, D.—Ver Tamsitt, J. R., p. 219.
VARGAS, M.—Algunas observaciones sobre el efecto irritante del DDT en cepas de *A. (Nyssorhynchus) albimanus* y *A. (Anopheles) punctimacula* en Costa Rica 97
VARVAS, M.—Algunas observaciones sobre los hábitos de *Anopheles (N.) albimanus* y *Anopheles (A.) punctimacula* adultos en la localidad de Matapalo (Puntarenas) Costa Rica 153
WILLE, A.—Evolutionary trends in the ventral nerve cord of the stingless bees (Meliponini) 117

REVISTA

DE

BIOLOGIA TROPICAL

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

VOLUMEN 9

1961

CONSTA DE VI + VI + 254 PP. INCLUYENDO FIGURAS

CONSEJO HONORARIO

CARLOS MONGE
Rector de la Universidad de Costa Rica

LUIS A. SALAS
Decano de la Facultad de Agronomía

GONZALO MORALES
Decano de la Facultad de Microbiología

OSCAR RAMIREZ
Decano de la Facultad de Farmacia

EDWIN FISCHEL
Decano de la Facultad de Odontología

MARIO MIRANDA
Decano de la Facultad de Medicina

RAFAEL L. RODRIGUEZ
Director

JOHN DE ABATE
RODRIGO ZELEDON
Directores Asociados

COMITE DE REDACCION

ROGER BOLAÑOS
RODRIGO R. BRENES
EDDIE ECHANDI
BERNAL FERNANDEZ
OTTO JIMENEZ
PEDRO MORERA
ARMANDO RUIZ
ALFONSO TREJOS
ALVARO WILLE

Los artículos que se deseen someter para su publicación deberán ser enviados a: Dirección de "REVISTA DE BIOLOGIA TROPICAL", Universidad de Costa Rica, Ciudad Universitaria, Costa Rica, A. C. La correspondencia relativa a canje y suscriciones deberá dirigirse a: Biblioteca de la Universidad de Costa Rica, Ciudad Universitaria, Costa Rica, A. C.

INFORMACION PARA LOS COLABORADORES

Esta REVISTA publica sólo trabajos originales e inéditos.

El COMITE DE REDACCION se reserva el derecho de aceptar o rechazar los trabajos recibidos. Los originales en ningún caso serán devueltos.

Los trabajos deben ser enviados en papel blanco de carta, escritos a máquina, a doble espacio, con tinta azul o negra y en páginas numeradas, indicándose la institución donde fueron realizados. Se aceptan trabajos que tengan como máximo 20 páginas; sólo excepcionalmente y a juicio del COMITE DE REDACCION, se publicarán trabajos mayores.

Se aceptan artículos en los siguientes idiomas: castellano, inglés, francés, portugués, italiano y alemán. Es obligatorio por lo menos un resumen en castellano.

La corrección de las pruebas de imprenta estará a cargo de los autores, pero se advierte que los trabajos enviados deben tener carácter definitivo.

Se aceptan fotos, cuadros y diseños, gráficos, etc. en tinta china y en número prudente, tomándose en cuenta las dimensiones de la REVISTA.

Las ilustraciones serán enviadas en hojas aparte con el nombre del autor y el número de la figura. Las leyendas correspondientes serán agrupadas por separado. En caso de microfotografías es necesario especificar el aumento.

Las citas bibliográficas, escritas en hoja aparte, seguirán el siguiente orden: apellido e inicial del nombre del autor, año, título del artículo por extenso, nombre de la revista (abreviación reconocida), volumen, número, primera y última página del artículo. En caso de libros, debe especificarse además la casa editora, lugar y número de edición.

Serán entregadas gratuitamente 100 copias de sus trabajos a los autores que están suscritos a la revista. Los no suscritos recibirán únicamente 50 copias.

Suscripción anual: Costa Rica ₡ 10.00. Otros países $2.00
Número suelto : Costa Rica ₡ 6.00. Otros países $1,25

51768 IMPRENTA METROPOLITANA